

THESIS

MUNICH

1966

**Untersuchungen
über die Komplementaktivität bei Kranken
mit primär-chronischer Polyarthritis**

Werner Hülße

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154016_0194

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE KOMPLEMENTAKTIVITÄT BEI KRANKEN
MIT PRIMÄR-CHRONISCHER POLYARTHRITIS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Werner H ü l ß e
aus Hannover

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Hartwig MATHIES
Koreferent: Prof. Dr. med. Walter SEITZ
Dekan: Prof. Dr. med. Manfred KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 4. 10. 1966

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
AUFGABENSTELLUNG	7
A. DAS WICHTIGSTE BISHERIGE WISSEN ÜBER DAS KOMPLEMENT UND DESSSEN VERÄNDERUNGEN	8
Geschichte des Komplements	8
Bildungsort und Bildung des Komplements	9
Aufbau, Bestandteile und Zergliederung des Komplements	10
Frühere Einteilung (Mittel- und Endstück)	11
Die einzelnen Komponenten	12
Reihenfolge der Bindung der einzelnen Komponenten und die Beziehung der Komponenten zueinander	16
Eigenschaften und Beeinflussung des Komplements	17
Spezifität des Komplements	17
Besonderheiten des Menschenkomplements	17
Antikomplementäre Wirkungen	18
Inaktivierung des Komplements	18
Heutige Auffassung über die Wirkungsweise des Komplements	19
Pathologische Veränderungen der Komplementaktivität	19
Vorgänge im reticulo-endothelialen System und hämoopoetischen Gewebe	20
Menge der antikomplementären Substanzen im Gewebe	20
Antigen-Antikörper-Reaktion	20
Hypersensibilisierung des Organismus	22
Exogene Einflüsse	22
Zusammenstellung bisher bekannter Komplementaktivitäts- veränderungen in 2 Listen	22
Komplementaktivitätsveränderungen bei rheumatischen Erkrankungen	25
B. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	27
Aufgabenstellung	27
Arbeitsmethoden	28
Untersuchte Personen	28

	Seite
Zweck der Versuche	28
Versuchsmaterial	29
Versuchsgang der Komplementtitrierung	31
Vorversuche	31
Hauptversuch	33
Messung und Auswertung der Komplementaktivität	34
Versuchsgang der Immunelektrophorese	36
Weitere, in dieser Arbeit berücksichtigte Untersuchungen	36
V Versuchsergebnisse - Beschreibung	40
C. DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG	53
Diskussion	53
Zusammenfassung	55
LITERATURVERZEICHNIS	57

In den letzten Jahren erkannte man, daß sich bei den verschiedensten Erkrankungen die Aktivität des Serumkomplements verändern kann.

In dieser Arbeit möchte ich der Frage nachgehen, ob man diese Veränderung der Komplementaktivität auch in den Seren von Kranken, die an primär chronischer Polyarthrititis leiden, nachweisen kann. Weiterhin soll untersucht werden, ob sich etwaige derartige Veränderungen mit spezifischen Veränderungen in der Immunelektrophorese, wie sie von IMRE und MATHIES (39) beschrieben wurden, vergleichen läßt.

Zunächst soll jedoch auf den Begriff "Komplement", dessen Geschichte, die Zusammensetzung des Komplements, seine Wirkung und Veränderungen, soweit bekannt, eingegangen werden.

A. DAS WICHTIGSTE BISHERIGE WISSEN ÜBER DAS KOMPLEMENT UND DESSER VERÄNDERUNGEN

Zur Geschichte der Komplementforschung

Gegen Ende des vorigen Jahrhunderts beobachtete der englische Chirurg LISTER (zit. n. DÖRR 12), daß Blut lange gelagert werden konnte, ohne zu faulen. Auch bei Zugabe einer geringen Menge saprophytischer Bakterien faulte das Blut nicht (NUTTAL zit. n. DÖRR).

Lag diese antibakterielle Wirkung an den festen Bestandteilen des Blutes oder am Blutplasma?

H. BUCHNER (zit. DÖRR 12) trennte Serum von den übrigen Bestandteilen des Blutes und lokalisierte in ihm eine antibakterielle Wirkung. Das Serum mußte seiner Meinung nach also den Abwehrstoff, den er Alexin nannte, enthalten.

BORDET (zit. DÖRR 12) stellte am Serum eine Schwächung der antibakteriellen Wirkung fest, als er es in Zimmertemperatur lagerte. Die alte Wirkung wurde aber nach Gabe einer geringen Menge frischen, unspezifischen Serums wieder voll hergestellt. BORDET vermutete zwei Bestandteile, die gegen die Bakterien wirken; einen thermolabilen Stoff, das Alexin, und einen thermostabilen Stoff, den Immunkörper.

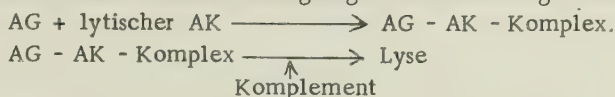
Auf diesen Erkenntnissen baute PAUL EHRLICH (zit. n. DÖRR 12) seine These auf: - Bakterizidie ist die Folge einer Lyse. Die Lyse wird durch Lysine verursacht, die aus einer Verbindung des Immunkörpers mit dem Alexin entstehen. Die Lyse entsteht erst bei gleichzeitiger Anwesenheit des Immunkörpers, der zu lösenden Substanz (Bakterium, Blutzelle) und des Alexins.

Das Alexin vervollständigte, d.h. komplettierte den lytischen Vorgang. Deshalb benannte EHRLICH das Alexin "Komplement". Den Immunkörper, das Bindeglied zwischen dem Komplement und dem Antigen, bezeichnete er als Anbozeptor.

Heute sieht man das Komplement als einen Serumbestandteil an, der bei Antigen- (AG) - Antikörper (AK) - Reaktionen den von uns erkennbaren Reaktionsvorgang erst auslöst (Die Notwendigkeit des Komplementes für diese Vorgänge wurde bisher jedoch lediglich bei den Reaktionen nachgewiesen, die eine Lyse zufolge haben). Die eigentliche Verbindung des Antigens mit dem Antikörper wird durch das Komplement nicht beeinflusst.

HEIDELBERGER (zit. nach FISCHER und HAUPT 26) charakterisierte das Komplement als "Intensifier of immunereactions".

Schematisch könnte man das ebengesagte etwa wie folgt aufzeichnen:



Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird auf die Bedeutung und das Wesen des Komplements noch näher eingegangen werden.

Bildungsort und Bildung des Komplements

Vor einer genaueren Beschreibung der Komplementbestandteile und der Komplementphysiologie sollen zunächst der Bildungsort und die Faktoren zur Komplementbildung erörtert werden:

a) Bildungsort:

Das Neugeborene hat kein Komplement oder zumindest sehr viel weniger als die Mutter (57). Das Komplement müßte also erst postnatal entstehen. Weiße Blutkörperchen - von MANDELBAUM (57) bestritten - und rote Blutkörperchen bilden kein Komplement (65); im intrakorporalen Blut ist die Komplementmenge größer als im extrakorporalen Blut; im Vollblut ist mehr Komplement als im Serum (32). Nach Verringerung der Gesamtmenge des Komplements aus dem zirkulierenden Blut, wie etwa durch Blutabnahme, normalisiert sich der Komplementspiegel wieder sehr schnell.

Über den genauen Bildungsort des Komplements ist wenig bekannt. Komplement ist ein Abwehrstoff und gehört den Globulinen an. Daher nimmt man bis heute für das Komplement den gleichen Bildungsort an wie für die Globuline und allgemeinen Abwehrstoffe im Blut; die Leber und das retikulo-endotheliale System (19).

MAIGNON und THIERY (54, 55) sind der Meinung, daß Komplement aus resorbiertem Trypsin und dessen Bindung an Globulin entsteht. MANDELBAUM (57) vermutet eine Entstehung von komplementaktiven Stoffen in den Leukozyten.

b) Noxen zur Komplementbildung:

Sicher erscheint, daß im gesunden Organismus die Komplementbildung vom vegetativen Nervensystem gelenkt wird (43, 52, 66, 109). Fraglich ist jedoch, welches der beiden vegetativen Systeme die Komplementbildung wie beeinflußt. Versuche zeigten, daß sowohl sympathische (52, 66) aber auch parasympathische Reizung (38) den Komplementtiter erhöhen. Dagegen konnte in Tierversuchen mit Meerschweinchen durch Pilokarpin und Physiostigmin der Komplementgehalt gesteigert, durch Atropin und Adrenalin gesenkt werden (85). Andererseits ließ Splanchnicusreizung den Komplementgehalt vor-

übergehend bis zu 25 % ansteigen (ausbleibend bei Vorbehandlung mit Yohimbin), Vagusreizung bis zu 16 % absinken (38).

Positiven Einfluß auf die Komplementbildung haben ferner Vitamin C und Vitamin K (Vitamin C- (28) bzw. Vitamin K-haltige Nahrung (17, 56) führt zu Komplementerrhöhung bis zum Überschuß) (67). Einen jahreszeitlichen Einfluß auf den Komplementtiter lehnt TRAUB (108) ab. P. VON DER ESCHÉ (109) beschreibt eine Titerensenkung bei luftelektrischen Einflüssen.

Aufbau, Bestandteile und Zergliederung des Komplements

Wie weiter vorne bereits kurz erwähnt, ist das Komplement ein physiko- und chemolabiler Bestandteil des Blutserums. Das Komplement ist keine homogene Proteinmasse, sondern besteht aus einem Komplex, der sich aus mindestens vier Kettengliedern - bzw. wie jetzt von vielen Autoren (26) beschrieben - mindestens 10, den Komponenten, zusammensetzt (Bei der Komponentenzahl von 10, werden die Untergruppen der Komponenten allerdings als eigene Komponenten gezählt). Durch Ausfall einer einzigen Komponente verliert die gesamte Komplementaktivität an Wirkung. Die Komponenten (C'_1 , C'_2 , C'_3 , C'_4 ... usw.) sollen Eiweiße sein (77, 79), die sich in ihrer chemischen Struktur - wie bisher erforscht werden konnte - lediglich durch ihren Gehalt an Kohlehydraten unterscheiden sollen (77, 79). C'_2 und C'_4 beispielsweise sollen kohlehydratreicher, C'_1 soll kohlehydratärmer sein. Besser lassen sich die Komponenten in ihrem Verhalten unterscheiden, d.h. in ihrer Aktivität, der Möglichkeit ihrer Inaktivierung, ihrer Thermo- und Chemoresistenz, ihrem Anteil an der Komplementzusammensetzung, der Reihenfolge ihrer Bindung an das Antigen-Antikörper-System und, wie früher unterschieden wurde, ihrer Lage, nämlich im "Mittel- oder Endstück" des fraktionierten Serums.

Eine Unterscheidung der Komponenten läßt sich auch mit Hilfe ihrer charakteristischen Lokalisation in bestimmten Präcipitationslinien der Immunelektrophorese durchführen (68).

MÜLLER-EBERHARD (68) konnte, wie später nochmals zusammengefaßt gebracht werden wird, in der

- β_1 - C-Präcipitationslinie die Komponente C'_3 ,
- β_1 - E-Präcipitationslinie die Komponente C'_4 ,
- β_1 - F-Präcipitationslinie die Komponente C'_5

lokalisieren.

Eine genaue Lokalisierung der Komponenten, bzw. des Gesamtkomplements in den Fraktionen der Papierelektrophorese ist bisher jedoch noch nicht gelungen. Lediglich die Feststellung, daß das Komplement in den Globulinfractionen liegt, erscheint sicher.

Die einzelnen Komponenten lassen sich am einfachsten nachweisen durch fraktionierte Inaktivierung des Komplements und nachfolgende Substitution der zerstörten Komponente durch ein Serum, in dem bis auf diese alle übrigen Komponenten zerstört wurden. Das substituierte Serum muß dann wieder komplementaktiv werden.

Frühere Einteilung in Mittel- und Endstück

Wird einem Serum durch H_2O -Dialyse Salz entzogen, so fällt bei einem pH -Wert von 5,8 ein labiles Globulin aus. Wird das Gemisch zentrifugiert, so setzt sich das Globulin als Bodensatz ab. Auf Grund dieser Feststellung wurde zu Beginn der Komplementforschung flgd. aufgestellt (96):

Der Bodensatz wurde als "Mittelstück" bezeichnet, die überstehende Flüssigkeit "Endstück" (23, 50, 90).

Jedes dieser beiden Teilstücke enthält zu einem Teil einige der Komponenten und ist für sich alleine als Komplement wirkungslos.

1.) Mittelstück

Das Mittelstück ist im Vergleich zum Endstück säurestabiler (opt. pH 5,4 - 5,8) weniger thermolabil (81). Das Mittelstück enthält Euglobuline und läßt sich elektrophoretisch in mindestens vier Proteine zerlegen (96).

An Komponenten enthält es:

- von C'_1 alles
- von C'_3 viel (59, 64)
- von C'_4 etwas.

2.) Endstück

Die Unterschiede in chemo- und thermoresistenter Hinsicht und der Unterschied in der Ausfällbarkeit zum Mittelstück wurden bereits erwähnt. Elektrophoretisch läßt sich das Endstück in vier Fraktionen zerlegen; Albumin, γ -Globulin und zur Zeit der Erstbeschreibung 2 noch unbekannte andere Eiweiße (96). Weiterhin ist das Endstück kohlehydratreicher (C'_2 -Gehalt!) als das Mittelstück.

Das Endstück enthält an Komponenten (64):

- von C'_2 alles
- von C'_3 etwas
- von C'_4 viel.

Von dieser ursprünglichen Untergliederung des Komplements ist man heute jedoch zu Gunsten der Einteilung in die 4 bzw. 5 Komponenten vollständig abgekommen. Sie sei in den folgenden Erläuterungen nur zur Erleichterung der Unterscheidung aufgeführt.

Beschreibung der einzelnen Komponenten

C₁' - Komponente

C₁', ein Euglobulin, ist vollständig im "Mittelstück" des zerlegten Serums enthalten. C₁' bestimmt im allgemeinen die Eigenschaften des "Mittelstückes", ist in einem p_H-Milieu von 5,4 - 5,8 sehr stabil (81). C₁' wird bei ca. 50° C inaktiviert, kann aber bei Bindung an sensibilisierte Blutzellen eine gewisse Thermoresistenz (1/2 - 1 h bei 56° C) erhalten (69, 100).

LEPOW u. a. (49) unterteilten die C₁'-Komponente in drei Untergruppen oder Aktivitäten, nämlich C₁'q, C₁'r, C₁'s.

Die Aktivität C₁'q soll mit der Sedimentationskonstanten 11S identisch sein. C₁'r entspricht einer Sedimentationsgeschwindigkeit von 7S und C₁'s einer von 4S, während der ganze Komplex nach MÜLLER-EBERHARD eine Sedimentationskonstante von 18S aufweist (68). LEPOW spricht davon, daß C₁'q die Komplexbildung einleitet. C₁'r aktiviert C₁'s, eine Proesterase zur aktiven Esterase. Diese aktivierte Esterase erst ermöglicht dann die Anlagerung der weiteren Komponenten.

Zu seiner Funktion benötigt C₁' Ca⁺⁺ Ionen (96).

C₂' - Komponente

C₂', ein Mucoeuglobulin, ist vollständig im "Endstück" der früheren Einteilung enthalten. Im sauren Milieu ist C₂' sehr thermolabil, im alkalischen dagegen thermostabiler als C₁' (99). Im Gegensatz zu C₁' soll hier eine erhöhte Eiweißkonzentration nicht aktivitätshemmend wirken (96). In Funktion und Charakter ist C₂' dem später zu beschreibenden C₄' sehr ähnlich, wahrscheinlich sind beide Kohlehydratproteinkomplexe (96). Zu seiner Funktion benötigt C₂' Mg⁺⁺-Ionen.

C₂' soll ein β-Globulin sein und eine Sedimentationskonstante von 6S aufweisen (68)

Diese Komponente konnte bisher noch nicht isoliert werden (68).

C₃' - Komponente

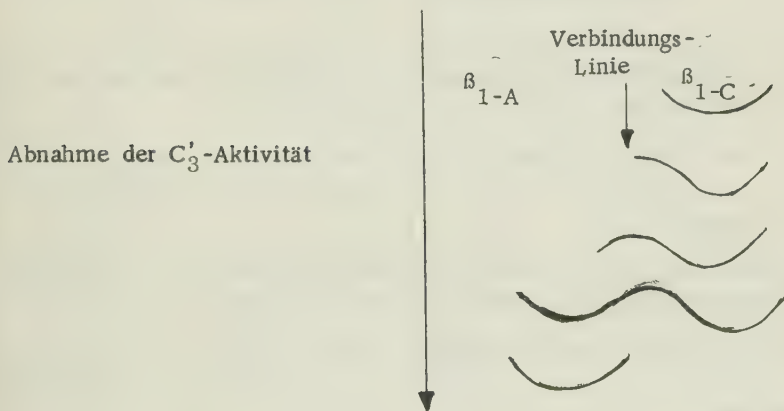
C₃', ein wahrscheinlich lipoidartiges Euglobulin kommt hauptsächlich im "Mittelstück", jedoch auch im "Endstück" vor (96).

RAPP (87) beschrieb, daß sich C₃' in 2 Fraktionen zerlegen läßt, die durch Chromatographie getrennt werden können. R. SAUTHOFF u. a. beschrieben eine Aufteilung von C₃' in 3 Untergruppen, nämlich C_{3a}', b, c (92). NELSON

(71) und LINSCHOTT (51) sprechen sogar von 4 Aktivitäten der C'_3 -Komponente, KLEIN (44) von 5 Aktivitäten. Es sind dies nach NELSON und LINSCHOTT die Aktivitäten C'_{3c} , b, a, d, nach KLEIN C'_{3a} , b, β , c, d. Die Reihenfolge der Aktivitäten gibt auch die Reihenfolge der Bindungen dieser Komponenten an die anderen, bereits an das hämolytische System gebundenen Komponenten an.

MÜLLER-EBERHARD und NILSSON (67) konnten einen Zusammenhang zwischen C'_3 und der β_1 -C-Globulin-Fraktion der Immunelektrophorese sehen. Die Fraktion β_1 -C verschwand bei Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen und bei der Behandlung des Serums mit Zymosan, also bei Inaktivierung von C'_3 .

Mit dem Schwund von β_1 -C trat gleichzeitig eine neue Präcipitationslinie, die β_1 -A-Linie auf; sie wurde als Zeichen des inaktivierten C'_3 angesehen. Mit abnehmender Komplementaktivität trat über eine Verbindungspräcipitationslinie die β_1 -A-Linie immer stärker auf, bis zu dem Punkt, an dem sie nur noch alleine zu erkennen ist:



Das Serum, bei dem β_1 -A auftrat, wies keine Komplementaktivität auf, zeigte sich aber auch nicht als antikomplementär wirksam (67).

Mit der Inaktivierung von C'_3 soll sich auch die Sedimentationskonstante von 9S auf 7S ändern (81).

MATHIES und IMRE (58) äußerten die Vermutung, daß der Rheumafaktor eine Bindung von β_2 -Makroglobulin und einem Komplementbruchstück, der C'_3 -Komponente darstellt. Das intakte Gesamtkomplement soll die Bindung des Rheumafaktors an die beladenen Latexpartikelchen jedoch inhibieren.

Interessant erscheint C'_3 weiterhin durch folgende Möglichkeiten seiner Inaktivierung:

a) Inaktivierung mit Kobragift (reversibel).

Bei Erwärmung (37°C , 1 h) wird durch einen wahrscheinlich enzymatischen Prozeß (= Lecithinase) aus dem Pro-Lysolecithin der C'_3 -Komponente Lysolecithin (= Lysocithin) gebildet. Dieses, die Blutkörperchen stabilisierende Substrat (22), hemmt die Wirkung von C'_3 (3, 4). C'_3 wird jedoch nicht zerstört, denn nach Adsorption des Lysolecithins durch frische Erythrozyten oder Luft (Schütteln) wird das gebundene C'_3 reaktiviert (BERGENHEM). Die inaktivierende Wirkung des Kobragiftes läßt sich durch sein Gehalt an Lecithinase erklären.

Infolge der Lysocithinbildung bei Zimmertemperatur wird C'_3 im Vergleich zu den anderen Komponenten bei der niedrigsten Temperatur inaktiviert.

b) Inaktivierung mit Zymosan.

Zymosan, ein Polysaccharid der Hefezellwand, inaktiviert zusammen mit Mg^{++} -Ionen und dem von PILLEMER (78) entdeckten Properdin C'_3 (78, 92).

Dieser Vorgang geht wahrscheinlich in 2 Stufen vor sich:

- 1.) Bei einer Temperatur von über 10°C , einem p_{H} -Wert von 7,0 und einem Serumfaktor, der vielleicht ein C'_x sein mag, verbindet sich das Zymosan mit Properdin zu einem Komplex (= PZ).
- 2.) Bei einer Temperatur von über 20°C und unter Mitwirkung von Mg^{++} -Ionen und einem noch unbekannten Serumproteinfaktor inaktiviert PZ die Komponente C'_3 .

Die Autoren nehmen an, daß das C'_3 ein Enzym ist, das sich mit PZ irreversibel bindet oder, daß C'_3 bei dieser Reaktion zerstört wird.

C'_3 kann durch Kochsalzzugabe stabilisiert werden (96).

C'_4 - Komponente

C'_4 kommt zum größten Teil im sog. "Endstück" vor, zu einem kleineren Teil im "Mittelstück". Es ist thermostabil, besonders in salzarmem Milieu (13). Nach PILLEMER (82) ist C'_4 nicht an Lipoidkomplexe gebunden, sondern gehört zum Polysaccharidanteil des "Endstückes".

Nach DEISSLER (11) spielt C'_4 eine wichtige Rolle durch seine Bindung an das sensibilisierte Antigen, einer Bindung, die ihrerseits wieder Voraussetzung zu einer Bindung des "Mittel-" und "Endstückes", also der weiteren Komponenten ist.

Interessant dürften auch bei C_4' die Inaktivierungsmethoden sein; Inaktivierung erfolgt durch: Ammoniak, durch Amine, Äther und Chloroform und Cadmiumsalze, die mit Lipoiden Verbindungen eingehen. Weiterhin kann C_4' durch Schlangengifte (außer Kobragiften), Bienengift und wie die anderen Komponenten auch, durch Erhitzen ($58 - 62^\circ \text{C}$, bei p_{H} 6,6 - 7,3) inaktiviert werden.

An der Isolierung von C_4' wird ebenso wie an der von C_2' noch gearbeitet (MÜLLER-EBERHARD 68).

Unerwähnte Komponenten

Über die unerwähnten Komponenten wurde diskutiert, sie konnten aber noch nicht bestätigt werden (13, 104, 105, 107).

Auch über ihre Anzahl herrscht noch, wie bereits erwähnt, große Unklarheit.

In seinem Referat vor dem "Mosbacher Kolloquium 1965" stellte MÜLLER-EBERHARD zur Beschreibung und besseren Unterscheidung der Komplementkomponenten eine Tabelle auf, die hier wiedergegeben sei (68).

	11S Kompon.	$\beta_1\text{-E-Glob.}$	$\beta_1\text{-C-Glob.}$	$\beta_1\text{-F-Glob.}$
S 20 w	11,1 S	10,0 S	9,5 S	8,5 S
Electr. mob.	γ 2	$\beta_1 - \alpha 2$	$\beta_2 - \beta_1$	$\beta_1 - \alpha 2$
Serum concentr. ug (ml)	20 - 30	30 - 50	300 - 400	30 - 50
Acitivity	C_1 9	C_4'	C_3'	C_5'
Receptor	EA	EAC'_{1a}	$\text{EAC}'_{1a, 4, +2a}$	$\text{EAC}'_{1a, 4, 2a}$
Temperature required	0	0	+	
Inactivated by	heat	N_2H_2	N_2H_2	heat

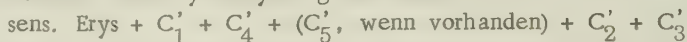
Tab. 1: Eigenschaften der isolierten Komplementkomponenten

Es werden hier Eigenschaften von vier dem Komplementsystem angehörenden Proteinen zusammengefaßt und zwar die

- der 11S-Komponente (= C_1')
- des $\beta_1\text{-E-Globulins}$ (= C_4')
- des $\beta_1\text{-C-Globulins}$ (= C_3')
- des $\beta_1\text{-F-Globulins}$ (= C_5')

Reihenfolge der Bindungen der einzelnen Komponenten und der Beziehungen der Komponenten zueinander

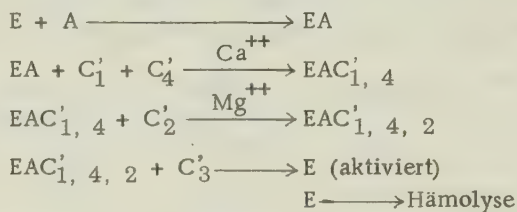
KOSSOVITCH (45) gibt an, daß die Komponenten in folgender Reihenfolge an die sensibilisierten Erythrozyten gebunden werden:



C'_3 soll nur als Katalysator dienen, denn es ist nach Ablauf der Hämolyse noch nachweisbar.

Bei einer hämolytischen Reaktion soll die Bindungsart von C'_4 beim Menschen und von C'_2 bei den verschiedensten Tierspezies einer Fermentreaktion ähneln (72).

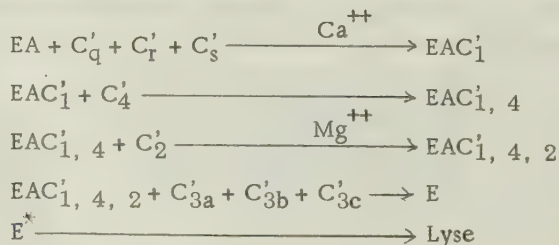
GRABAR (30) schematisierte den Ablauf der Komplementfunktion (bzw. die Funktion der einzelnen Komponenten) bei einer hämolytischen Reaktion in folgendem Schema:



Der Erythrozyt (E) verbindet sich mit dem Antikörper (A) zu einem Antigen-Antikörper-Komplex (EA). An EA lagern sich in Anwesenheit von Ca^{++} -Ionen die Komponenten C'_1 und C'_4 . An den so gebildeten Komplex lagert sich in Anwesenheit von Mg^{++} -Ionen C'_2 .

Im AG-AK-Komplex EA mit den angelagerten 3 Komponenten erfolgt erst nach Anlagerung der letzten Komponente, nämlich C'_3 , die Hämolyse.

Unter Berücksichtigung der drei Aktivitäten von C'_1 und C'_3 ließe sich das GRABAR'sche Schema noch wie folgt ergänzen (nach LEPOW, TODD u. a.) (49):



E = veränderte Erythrozytenmembran

Nach Ansicht von P. KLEIN (43) setzt sich diese Hämolyse aber nicht nur aus Aufbauschritten zusammen;

Während der Anlagerung der Komponenten an den EA-Komplex kommt es gleichzeitig zu Abbaureaktionen;

Die Zwischenstufe EAC'_1 wird durch einen Faktor, der im Vollblut vorhanden ist, inaktiviert und in die Reaktionsform der Stufe EA zurückgeführt.

Der gleiche Faktor interferiert außerdem mit der C'_2 -Bindung an $EAC'_{1,4}$. Das $EAC'_{1,4}$ wird also in seiner Reaktionsbereitschaft mit C'_2 durch den "Inaktivierungsfaktor" abgeschwächt.

Es erfolgt also eine Art "Wettlauf zwischen der Inaktivierung von gebundenem C'_1 einerseits und der Bindung von C'_4 bzw. C'_2 andererseits" (zit. nach P. KLEIN).

Bei der Reaktion der Stufe $EAC'_{1,4,2}$ mit C'_3 erfolgt die C'_3 -Bindung im "Wettlauf mit dem spontan verlaufenden Verfall des gebundenen C'_2 " (zit. nach P. KLEIN 43).

PILLEMER (83) beschrieb eine Abhängigkeit der Menge einer jeden gebundenen Komponente vom Komplementalter, dem Sensibilisierungsgrad, der Komponentkonzentration, der H^+ -Ionenkonzentration, der Ionenstärke, der Zeit und der Temperatur der Reaktion.

Eigenschaften und Beeinflussung des Komplements

Spezifität des Komplements

Nicht jedes Normalserum, also jedes beliebige Komplement, vermag sensibilisierte Erythrozyten beliebiger Tierarten zu lösen. Wahrscheinlich fehlen dazu gewisse Komponenten (96). Im allgemeinen kann in diesem Fall nur bei besonders starker Sensibilisierung Lyse erfolgen (114). Eine Ausnahme scheint nur das Menschenkomplement zu machen, das sich an Menschenerythrozyten ebenso gut bindet, wie das Komplement anderer Arten.

Die Spezifität der Komplemente bestimmter Tierarten gegenüber den Blutzellen anderer Tierarten wurde von SCAFFIDI (94) erforscht. Nach VORLÄNDER (11) ist die Spezifität der Komplemente oft nur scheinbar; sie beruht auf Hemmstoffen, die gegen sie gebildet werden.

Besonderheiten des Menschenkomplements:

Menschenkomplement wird durch 30-minütiges Erhitzen bei 52°C inaktiviert. Von den Komponenten ist nur C'_3 mit dem C'_3 von Säugetieren zu vertauschen (15). Menschenkomplement ist bei Schafbluthämolyse nur schwach wirksam,

was auf seinem geringen Gehalt an C_2' beruhen soll (36). Die Komplementaktivität des Menschen ist im allgemeinen schwächer als die des Meerschweinchens (96).

Nach ECKER (16) sind von den vier Komponenten C_2' und C_3' am geringsten vorhanden.

Antikomplementäre Wirkungen:

Gewisse Stoffe können die Komplementwirkung herabsetzen. Diese antikomplementäre Wirkung kann durch andere Stoffe aber wieder aufgehoben, bzw. vermindert werden. Folgende Beispiele seien herausgegriffen (96):

antikomplementär wirkende Faktoren Gegenstoff

1.) Beim Menschen:

gamma-Globulin in einer
Konz. von über 0,04 mg (10)

Antikörper

1. Zusatz von Albumin, β -Glob.
2. Denaturalisierung des gamma-Glob. durch Erhitzen
3. Verhinderung der Antikörperbildung durch Fernhalten von Antigen

2.) Beim Meerschweinchen:

Pferdeserum, da es einen
Lecithingehalt hat.

Erhitzen des Pferdeserums auf 52°C

3.) Allgemein:

Lagerung bei Zimmertemp.,
Hitze, Alterung

Lagerung nach Behandlung mit
Kaolin

Der "inaktivierende Faktor"
(s. o.) in den einzelnen Bin-
dungsstufen (43).

Kühle Lagerung

Allgemein darf man dazu wohl sagen, daß es sich bei der antikomplementären Wirkung um Vorgänge handelt, die entweder ein C' inaktivieren oder den Angriffspunkt der Komponente am sensibilisierten Substrat blockieren (84).

Inaktivierung des Komplements:

Das Komplement wird durch Inaktivierung einer seiner Komponenten unwirksam.

Am einfachsten läßt sich eine Inaktivierung durch Hitzeeinwirkung auf die thermolabilste Komponente erzielen. Der Eiweißbestandteil der Komponente wird dabei denaturiert.

Heutige Auffassungen über die Wirkungsweise des Komplements

Soweit sie nicht vorher schon durch das Studium der Komponenten, deren Funktion, deren Zusammenwirken und Ausschaltung, die Funktion des Gesamtkomplementes erhellt wurde, läßt sich noch folgendes ergänzen:

Die Intensität der Komplementbildung und die Bindungsintensität der einzelnen Komponenten richtet sich nach der Tiergattung, der Art der Stoffe, die das Komplement binden soll, ferner, wie bereits oben erwähnt, nach dem Alter des Komplements, der Konzentration von Antigen, Antikörper und Komplement, dem p_H -Wert (83), der Ionenstärke des Milieus, der Temperatur, sowie der Reaktionszeit.

Über die Beeinflussung des Antigens durch das Komplement nimmt man bis heute dies an:

Keinen Einfluß auf die Struktur des Antigens nimmt das Komplement bei Präcipitationsreaktionen, jedoch bei Hämolyse und Bakteriolyse (12, 96);

Elektronenoptisch läßt sich hierbei feststellen, daß das Komplement die Zellmembran schädigt. BARSOS und Mitarbeiter (1) beobachteten auf der Zellmembran kraterförmige, unregelmäßige Vertiefungen von 80 Å Durchmesser, die durch das Zusammenspiel Antikörper-Komplement entstehen sollten. Diese Beobachtung wurde von ROSE u. a. bestätigt (87).

Die Membran ist noch völlig intakt, solange nur die Komplementkomponenten $C'_{1,2,4}$ gebunden sind. Erst bei Anlagerung von C'_3 setzt die Veränderung ein.

FISCHER und HAUPT (26) sprechen davon, daß die " C'_3 -Aktivitäten eine Explosion auslösen, die die Krater entstehen lassen."

Pathologische Veränderungen der Komplementaktivität

Während MANDELBAUM (57) behauptet, daß selbst bei schwersten Krankheiten die Komplementaktivität gleichbleibt, stellten verschiedene Forscher Veränderungen der Komplementaktivität bei Erkrankungen des Organismus fest (siehe S. 20!).

Bestrebungen, die veränderte Aktivität des an sich unspezifischen Komplements als diagnostisches Hilfsmittel zu verwenden, dürften bis jetzt wohl noch an den unterschiedlichen und sich oft widersprechenden Forschungsergebnissen scheitern.

Bis zum heutigen Tage scheint man sich lediglich darüber einig zu sein, daß folgende Vorgänge und Veränderungen im Organismus eine Veränderung der Komplementaktivität bedingen:

1.) Vorgänge im Reticulo-endothelialen System und im hämopoetischen Gewebe

Bei Krankheiten des reticulo-endothelialen Systems (RES) wurden sowohl Erhöhungen der Komplementaktivität, wie auch Verminderungen festgestellt. Da diese Veränderungen bei Hyper- bzw. Hypoplasie des RES auftreten, wurde auf einen Zusammenhang zwischen RES-Funktion und Komplementaktivität geschlossen. Bisweilen wird aber auch bei Hyperplasien erwähnten Gewebes eine Titersenkung beobachtet (etwa bei Lymphgranulomatose und myeloischer Leukämie). Hierfür wird eine Erklärung in der gleichzeitigen Hyperplasie von Milz und Leber, die ihrerseits wieder antikomplementäre Substanzen erzeugen sollen, gesucht (75 b).

2.) Menge der antikomplementären Substanzen im Gewebe

Antikomplementär wirkende Stoffe, die regelmäßig, aber in verschiedener Konzentration im Organismus vorkommen (besonders in der Niere), können sich bei pathologischen Zuständen anhäufen bzw. verringern und dadurch die Komplementaktivität beeinflussen.

Folgenden körpereigenen Stoffen und Vorgängen sagt man eine antikomplementäre Wirkung nach:

- 1.) Polypeptide und Polysaccharide, die das Komplement adsorbieren können (62).
- 2.) gamma-Globulin (als Antikörper-Träger) (75 a, b).
- 3.) Heparin.
- 4.) Eine allgemeine Hypoproteinämie, wodurch die RES-Funktion wiederum eingeschränkt werden soll.
- 5.) Proteolytische Stoffe.

Durch Leberzirrhose, chronische Nephritis, Plasmocytome können sich die antikomplementären Substanzen anhäufen (75 a, b).

3.) Antigen-Antikörper-Reaktionen

Der Effekt des Komplements ist, wie bereits einleitend erwähnt, bei entsprechendem Antigen-Antikörper-Komplex, die stattgefundenen Antikörperreaktion aufzuzeigen. Das Komplement wird dabei ganz oder teilweise verbraucht. Der momentane Komplementspiegel sinkt also ab. Über das weitere Schicksal des Komplements bei der AG-AK'-Reaktion, ob es verbraucht wird, dann einen erniedrigten Titer aufweist, ob die Aktivität zu Beginn erhöht ist, sich nach einiger Zeit unter die Norm senkt und sich danach allmählich normalisiert oder ob die Komplementaktivität durch den anfänglichen Verbrauch des Kom-

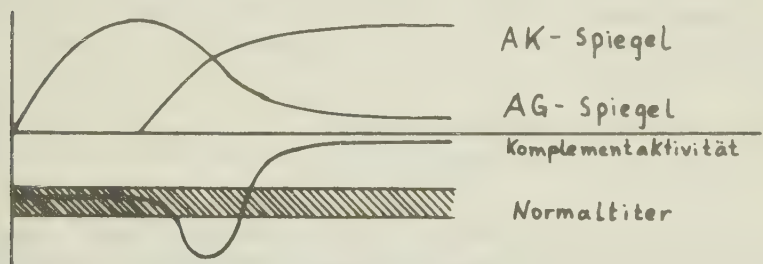
plements stark absinkt und sich erst im weiteren Verlauf der Krankheit reaktiv erhöht, und wie sich das Komplement bei chronischen AG-AK-Reaktionen verhält, darüber bestehen bis heute noch sehr unterschiedliche Auffassungen:

a) PERLICK (75 b)

Bei einer AG-AK-Reaktion wird Komplement in erhöhtem Maße verbraucht, was eine Erniedrigung des aktiven Komplementgehalts verursacht (Anergie). Im Verlauf der Reaktion wird Komplement reaktiv vermehrt nachgebildet, weshalb in späteren Stadien der Erkrankungen die Komplementaktivität erhöht ist (Hyperergie).

Im Zustand der Anergie ist der Organismus erheblich resistenzgeschwächt. Ein langes Andauern der Anergie ist als ungünstige Prognose zu werten (75 b). Hyperergie deutet auf intensive Abwehrvorgänge im Organismus hin.

Das Verhalten des Komplementtiters bei einer AG-AK-Reaktion sei nach PERLICK (75 b) wie folgt schematisiert:



Nach PERLICK (75) wird bei einer Antigen-Antikörper-Reaktion Fibrinolyse aktiviert, das seinerseits wieder Komplement inaktiviert.

b) BURBANK (siehe Buchholtz) (8, 9)

Bei Infektionskrankheiten steigt der Komplementtiter zunächst an und sinkt mit Eintritt der Lyse oder Krise wieder ab. Bei Komplikationen während der Lyse steigt die Aktivität wieder an.

c) ECKER (14):

Komplementschwund bei Infektionskrankheiten infolge eines Mangels an "Combining-Components", wohingegen eine Komplementtitersteigerung auf einen Titeranstieg jeder einzelnen Komplementkomponente zurückzuführen ist.

4.) Hypersensibilisierung des Organismus

Bei Krankheiten des allergisch-hyperergischen Formenkreises wird im allgemeinen eine verstärkte Komplementaktivität festgestellt. M.a.W.: Erhöhte Komplementaktivität ist mitunter ein Zeichen einer allergisch-hyperergischen Reaktionslage mit erhöhtem Antikörpergehalt (75 a, b).

Als Beispiel sei der Titeranstieg bei Hämoblastomen aufgeführt. Man nimmt an, daß hier eine Sensibilisierung im Ablauf einer Autoimmunisierung vorliegt (75 a, b).

5.) Exogene Einflüsse

Neben den endogenen Ursachen für die Komplementveränderungen gibt es auch noch mannigfache exogene Einflüsse auf die Komplementaktivität, wie etwa Pharmaka oder Strahlen.

Die Komplementaktivität wird geschwächt z.B. durch Streptomycin, ACTH (u. a. ein therapeutisches Mittel zur Komplementsenkung), Cytostatika, Antihistaminika (Phenothiacin), Adrenalin, Atropin, Thyroxin, Kohlenmonoxyd, Röntgenganzbestrahlung.

Fördernd auf die Komplementaktivität wirken:

Pilokarpin, Physostigmin, Roentgenteilbestrahlung in kleinen Dosen, kurzzeitige U-V-Bestrahlung (75 a).

Nachdem die 5 wichtigsten Ursachen für eine Komplementveränderung beschrieben wurden, sollen in der folgenden Liste unzusammenhängend die Erkrankungen aufgezählt werden, bei denen eine Veränderung der Komplementaktivität beschrieben wurde. Die Angaben stammen von folgenden Autoren:

BUCHHOLTZ (7), ERDMANN (20), HASELER (35), KELLET THOMSON (42) und PERLICK (75 a, b).

Abgeschwächt	normal	erhöht
1) Bei Krankheiten des Blutes und der blutbildenden Organe:		
hämolyt. Anämie	Leukämie	myel. Leukämie
Kältehämoglobinurie		lymphat. Leukämie
Osteomyeloreticulose		Lymphogranulomatose
Plasmocytose		Cytopenien wie:
Reticulose		Erythrozytopenie
Panmyelophthise		Granulocytopenie
		Thrombocytopenie
		Pancytopenie

2) Bei entzündlichen Erkrankungen wie:

Arthritis	Thrombophlebitis	Thrombophlebitis
Gelbfieber	Endangitis oblit.	Endangitis oblit.
Scharlach	Scharlach im Exanthemstadium	
	Scharlach	
Lungen-Tb	Lungen-Tb	Lungen-Tb in der Jugend
Diphtherie	Diphtherie	
Pneumonie	Pneumonie	Pneumonie
Grippe	Grippe	
Ruhr		
	Meningitis	
		Typhus
Akute Gl-Neph.	chron. Nephritis	
Akute Nephritis		
		hohes Fieber
Lues		
Lues III mit		
progr. Paralyse		
Gonorrhoe		
	allgemeine Sepsis	

3.) Bei Leberaffektionen:

allgem. Leberschäden	Mechan. Ikterus
Leberzirrhose	
Salvarsanikterus	
Weil'sche Krankheit	

4.) Bei Krankheiten mit Beteiligung des endokrinen Systems:

Bronzediabetes	Diabetes	
Morbus Basedow		Morbus Basedow
Thyreoidektomie		

5.) Bei sonstigen Erkrankungen wie:

Vit. C. -Hypervitaminose		
Vit. C. -Hypovitaminose		Vit. C. -Hypovitaminose
Anaphylaxin und		
Allergin		
Quinke-Ödem		
Urticaria		

abgeschwächt	normal	erhöht
Veronalvergiftung		
CCl ₄ -Vergiftung		
allg. Kachexie	Dermatomyositis	Dermatomyositis
	Neoplasma	Neoplasma
	Carcinom	
Hirntraumen		
große körperl. Anstrengung		Bier'sche Stauung am Oberarm
	purpura rheumat.	purpura rheumat.
Serumkrankheit, paroxysm. Hämogl. -Urie		Herzklappenfehler

PERLICK (75 b) ordnete die Komplementaktivität bei chron. Bindegewebserkrankungen und Nierenerkrankungen wie folgt:

Komplementaktivität

	abgeschwächt	normal	erhöht
Gesunde		_____	
rheumat. Fieber			_____
Polyarthr. rheum. acuta			_____
" " chron.	_____		
Endocarditis rheumat.	_____		
Lupus erythematodes	_____		_____
Sklerodermie			_____
Dermatomyositis			_____
akute Glomerulonephritis	_____		
chron. progr. "	_____		
Herdnephritis		_____	
cardio-vasc. Nephrosklerose		_____	
diabetische "		_____	
Lipoidnephrose		_____	
Amyloid "	_____	_____	
Hg-Intoxikations-nephrose		_____	
Pyelonephritis		_____	
Scharlach ohne Nephritis	_____		

Die Länge und Lage der, grob als Strecken dargestellten Werte, soll etwa die Bereiche anzeigen, in denen die Komplementaktivität in den einzelnen Fällen liegt.

Es herrschen also die unterschiedlichsten Meinungen über die Komplementveränderungen bei Krankheiten vor.

Bei kurzdauernden Infektionskrankheiten kann sich der veränderte Komplementtiter so schnell wieder normalisieren, daß Schwankungen nicht erkannt werden.

Während eines Krankheitsfalles verändern sich die Komplementwerte ständig, je nach Verlauf und Therapie (PERLICK 75 b).

Komplementaktivitätsveränderungen bei rheumatischen Erkrankungen

Zu den hier besonders interessierenden Forschungsergebnissen über die Titerveränderungen bei rheumatischen Erkrankungen konnte auch keine einheitliche Linie ersichtlich werden.

BUCHHOLTZ (7) stellte in seinen Arbeiten 1934 fest, daß bei akuten rheumatischen Erkrankungen der Komplementtiter sinkt. Er deutete das als Zeichen einer heftigen AG-AK-Reaktion im vorsensibilisierten Organismus.

COBURN u. a. schlossen sich der Meinung von BUCHHOLTZ an, ebenso RACHMILEWITZ und SILBERSTEIN (86).

KELLET und THOMSON (42) bezweifelten überhaupt eine Veränderung der Komplementaktivität bei rheumatischen Erkrankungen.

Eine hohe Komplementaktivität zu Beginn der akuten Polyarthrits und eine Senkung im späteren Stadium beschrieben HADJOPOULOS (33) und BURBANK (8). Die gleichen Schwankungen wurden auch bei anderen fieberigen Erkrankungen gefunden.

FISCHEL (24, 25) beschrieb eine geringgradige Erhöhung des Komplementtiters bei 43 von 50 Fällen von akuter Polyarthrits.

Nicht weniger uneinheitlich sind die Berichte über die Veränderung der Komplementaktivität bei primär chronischer Polyarthrits (= PCP).

ELLIS und FELIX-DAVIS (19) und LAURELL-GRUBB (46) konnten überhaupt keinen Unterschied zum Normalserum feststellen, höchstens eine geringfügige Aktivitätssteigerung. Das gleiche stellten SILBERSTEIN und RACHMILEWITZ (zit. nach MATHIES-Habil.-Schrift) (59) fest.

PERLICK (75 a) sowie PERLICK und TOST (76) stellten eine Komplementaktivitätssenkung bei PCP fest, unabhängig davon PALLESKE (74), JORDAN (41) und GEIDEL (29).

VAUGHAN, BAYLES und FAVOUR (110) hingegen stellten bei PCP eine Steigerung der Komplementaktivität fest.

B. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Ausführung der Arbeit

Aufgabenstellung

In dieser Arbeit soll in geringer Abwandlung bisher beschriebener Methoden der Komplementtiter von Seren gesunder Personen mit dem von an PCP-Erkrankten verglichen werden.

Weiterhin soll versucht werden, die Titerwerte mit verschiedenen anderen Zeichen der Krankheit, ihrer Dauer, dem Alter des Patienten und - was mir besonders aufgetragen wurde - die Ergebnisse einer evtl. Komplementaktivitätsveränderung mit den Veränderungen zu vergleichen, die in der Immunelektrophorese (IMRE und MATHIES 39) auftreten.

Nach den grundlegenden Arbeiten von MÜLLER-EBERHARD und NILSSON (67) konnten IMRE und MATHIES (39) feststellen, daß in der Immunelektrophorese von Seren PCP-Kranker auch eine Abschwächung der $\beta_1\text{-C}$ -Präcipitationslinie, bzw. dafür ein mehr oder weniger starkes Erscheinen der $\beta_1\text{-A}$ -Präcipitationslinie auftritt.

Das Auftreten der $\beta_1\text{-A}$ -Linie erklärten sie sich wie MÜLLER-E. mit einem Schwund der C'_3 -Komponente.

IMRE und MATHIES (39) stellten 3 Grade der Intensität der $\beta_1\text{-A}$ -Präcipitationslinie und somit auch 3 Grade der C'_3 -Aktivität auf:

- | | | |
|---|---|--|
| a) $\beta_1\text{-C}$ -Linie ist vorhanden | = | C'_3 -Aktivität auf jeden Fall vorhanden |
| b) $\beta_1\text{-A}$ -Linie ist angedeutet | = | C'_3 -Aktivität abgeschwächt |
| c) $\beta_1\text{-A}$ -Linie und $\beta_1\text{-C}$ -Linie
sind voll vorhanden und miteinander verbunden | = | C'_3 -Aktivität ist am stärksten abgeschwächt |

Beispiel:

$\beta_1\text{-C}$



$\beta_1\text{-A}$



$\beta_1\text{-A}/\beta_1\text{-C}$ -Komplex



Zu diesem Thema wirft sich in unserer Arbeit die Frage auf, inwieweit sich die Veränderungen in den β_1 -A - β_1 -C - Linien des immunoelektrophoretischen Bildes, also die Veränderung der C_3 -Aktivität auf die hämolytische Aktivität des Gesamtkomplementes auswirkt.

Zunächst soll über die verschiedenen Arbeitsmethoden, die Versuchspersonen, den Zweck der Versuche und das Versuchsmaterial berichtet werden:

Arbeitsmethoden

Während bis zu Beginn der vierziger Jahre die Komplementaktivität meist nach den von BUCHHOLTZ und VEIL (7) angegebenen Methoden bestimmt wurde, wird jetzt größtenteils nach den Versuchsmethoden von FISCHER, VAUGHAN, WALTON und ELLIS gearbeitet (112). Diese Autoren gründen ihre Methode auf Angaben von MAYER, OSLER, BIER und HEIDELBERGER (60). Einige Arbeiten, z. B. die von PALLESKE (74) wurden nach der Methode von JORDAN (41) ausgeführt.

Für die vorliegenden Versuche wurde als Grundgerüst die Arbeit von WALTON und ELLIS (112) verwendet. Für die besonderen Erfordernisse dieser Arbeit wurden - jedoch immer auf diesem Gerüst basierend - einige Arbeitsgänge (z. B. andere Komplement-Erythrozyten- und Ambozeptoren-Konzentrationen) leicht umgeändert.

Die Abänderungen erwiesen sich im Laufe einiger vorbereitender Versuche während der Einarbeitungszeit als angebracht.

Untersuchte Personen

Es wurden Versuche mit Seren durchgeführt, die von 27 Patienten stammten, die an PCP leiden und deren Rheumafaktor-Test (Latex) positiv ist. Alle werden seit mehr oder weniger langer Zeit bei der Rheumaambulanz der Med. Poliklinik der Universität München behandelt. Alle Patienten stehen unter Steroid-Therapie.

Im Vergleich dazu wurden Seren untersucht, die von 28 gesunden Personen im Alter von 20 - 30 Jahren stammten. Ein Serum stammte von einer über vierzigjährigen Person.

Zweck der Versuche

In einem hämolytischen System (Hammelblutkörperchen + hämolytischer Ambozeptor (AZ)) wurde durch Zusatz von Komplement - in Form von menschlichem Serum - Hämolyse erzeugt.

Während das hämolytische System bei den verschiedenen Versuchen in einer immer gleichbleibenden Konzentration vorlag, wurden die Seren in abgestuften Verdünnungsreihen zugegeben.

Es wurden also durch verschiedene Komplementkonzentrationen (= verschiedene Serumverdünnungen) verschiedene Hämolysegrade erzeugt. Durch Vergleich der Hämolysegrade, die bei derselben Verdünnungsstufe mit den verschiedensten Seren erreicht wurden, wurde auf die Komplementaktivität in den einzelnen Seren geschlossen.

Die Hämolysegrade, die mit einem Serum in den verschiedenen Verdünnungen erhalten wurden, wurden in ein Koordinatensystem eingetragen.

Die jeweils resultierenden Kurven aus den einzelnen Versuchen wurden verglichen.

Im 2. Teil der Versuche wurden die Seren immunoelektrophoretisch zerlegt und das elektrophoretische Bild ausgewertet.

Versuchsmaterial

a) Besondere Schwierigkeiten:

Für unsere Versuche wurde durchwegs biologisches Material verwendet, also entstehen viele Fehlermöglichkeiten, die durch eine möglichst sorgfältige und gleichmäßige Behandlung des Materials und Ausführung der Versuche auf ein Minimum gesenkt werden sollen bzw. derartig gleichmäßig auftreten sollen, daß eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet bleibt.

Im Versuch wurde mit Hammelerythrozyten, menschlichem Serum und Kaninchen-Anti-Hammelerythrozyten-Ambozeptor (AZ) gearbeitet. Im Vorversuch wurde dazu noch Meerschweinchenkomplement verwendet.

Inwiefern können sich diese Stoffe ändern, wie werden sie - bis zum eigentlichen Versuch - behandelt?

b) Erythrozyten:

Die Hammelblutkörperchen können - was in unserem Versuch beachtet werden muß - in ihrem Hb-Gehalt, ihrer hämolytischen Resistenz und später in der Suspensionslösung in ihrer Konzentration stark schwanken.

Es wurde daher Blut immer nur von einem gesunden, nüchternen Tier entnommen. Unmittelbar darauf wurde aus dem defibrinierten Blut durch dreimaliges Zentrifugieren (3000 U/min - 30 Minuten lang) in Alsever-Lösung und anschließendes dreimaliges Auswaschen mit physiologischer Kochsalzlösung ein

konzentriertes Sediment von Erythrozyten erhalten. Es wurde bis zu den Versuchen in 4° C, höchstens bis zu 24 Stunden aufbewahrt.

Unmittelbar vor dem jeweiligen Versuch wurde aus dem Sediment durch genaues Verdünnen mit veronal-gepufferter, physiol. Kochsalzlösung (= PL) eine 2-prozentige Suspension hergestellt.

(Die Beschreibung der Veronal-Pufferlösung findet sich in einer Arbeit von MAYER, EATON und HEIDELBERGER 62).

In jedem Versuch wurde aus der jeweiligen Suspension mit destilliertem Wasser eine 100-prozentige Hämolyse hergestellt und das Photometer danach eingestellt. - Ungenauigkeiten, die auf einem unterschiedlichen Hb-Gehalt und einer unterschiedlichen Suspensions-Konzentration beruhen, sollten dadurch ausgeschaltet werden.

c) Serum:

Sein Gehalt an Komplement soll untersucht werden. Das Komplement ist besonders lagerungs- und temperaturempfindlich. Es verliert schnell seine Aktivität, und gerade diese soll gemessen und verglichen werden. Da aus technischen Gründen eine Lagerung unvermeidlich war, wurden alle Seren auf die gleiche, nachfolgende Weise behandelt.

- 1.) Nativblut nüchterner Personen (Patienten und gesunde Versuchspersonen) wurde zur Gerinnung 45 Minuten in Zimmertemperatur aufbewahrt.
- 2.) Danach Trennung des Blutkuchens von der Gefäßwand mit einer Nadel.
- 3.) Daraufhin wurde das Blut 10 Minuten lang bei 3000 U/min. zentrifugiert.
- 4.) Nach der Zentrifugation wurde das Serum vom Bodensatz getrennt und sofort in ein Tiefkühlfach mit einer Temperatur von -28° C eingelagert. 57 - 60 Minuten nach der Blutentnahme wurden die Seren in das Tiefkühlfach eingebracht. - Nach 2 - 3 Tagen wurde das Serum langsam wieder aufgetaut und für die Versuche verwendet.

Der unvermeidliche Aktivitätsschwund sollte bei dieser Methode derartig gleich ausgefallen sein, daß sich die Seren trotzdem gut miteinander vergleichen lassen.

d) Der Ambozeptor (AZ):

Der hämolytische Ambozeptor hatte meist gleiche Titerwerte; die Vorversuche fielen praktisch immer gleich aus. Ein Vorversuch wurde bei jedem neuen Fläschchen angestellt. Wurde ein Fläschchen nach der ersten Ambozeptorentnahme

me für längere Zeit gelagert, so erfolgte alle 4 - 5 Tage ein neuer Vorversuch mit dem gleichen Ambozeptor.

Für den gelieferten AZ wurde ein Titerwert von 6000 angegeben. Der AZ wurde in einer Temperatur von 4°C gelagert.

e) Meerschweinchen-Komplement:

Zur Feststellung der AZ-Gebrauchsverdünnung (= GD) im Vorversuch wurde konserviertes Meerschweinchen-Komplement verwendet. Es ist bei Behring hergestellt und wurde vor dem Versuch höchstens 10 Tage lang in 4°C gelagert.

Während der Versuchswochen wurden laufend verschiedene Kontroll- und Vergleichsuntersuchungen - zum Teil mit schon vorher bekannten Werten - angestellt, um sich von der Richtigkeit der Versuchstechnik zu überzeugen, bzw. etwaige Fehler aufdecken zu können. Mit einem Serum wurden oft verschiedene Versuchsreihen aufgestellt.

Versuchsgang der Komplementtitrierung

A. Vorversuche:

In den Hauptversuchen mußten die Hammelblutkörperchen ausreichend mit dem hämolytischen AZ sensibilisiert werden, um genügend feine Unterschiede in den Hämolysegraden darstellen zu können. Es mußte also zu der Blutkörperchensuspension ein genügend starker hämolytischer Ambozeptor (= in ausreichender Gebrauchsdosis) gegeben werden.

Die Gebrauchsdosis (= GD) wurde im Vorversuch bestimmt (nach HALLMANN 34).

a) Komplement-Vorversuch:

Im AZ-Vorversuch (b) wurde mit Meerschweinchenkomplement gearbeitet; dessen Aktivität mußte ebenfalls bestimmt werden:

- 1.) Sensibilisierung der Erythrozytensuspension mit der gleichen Menge einer sehr starken AZ-Konzentration. Hier in einer GD von 1 : 1 des gelieferten AZ.
- 2.) Aufstellen einer Verdünnungsreihe von Meerschweinchenkomplement:
Kompl.: PL wie 1 : 5; 1 : 10; 1 : 15; 1 : 20
- 3.) Zusammenbringen von:
je 0,5 ml Meerschweinchenkomplement in einer der 4 Verdünnungen mit 0,5 ml sens. Erythrozyten. Dazu 1,0 ml PL!
- 4.) Lagerung für 30 Minuten in 37°C (konst. Temp.)

Das Röhrchen, das bei geringster Komplementkonzentration noch eine vollständige Hämolyse zeigte, wurde notiert. Mit der hier vorhandenen Komplementkonzentration wurde im AZ-Vorversuch gearbeitet.

b) Ambozeptor-Vorversuch

Materialien:

- a) 2%ige Ery-Suspension.
- b) Ambozeptor in der gelieferten Form.
- c) Meerschweinchenkomplement in der im Komplementvorversuch bestimmten Konzentration.
- d) Veronal-gepufferte physiolog. Kochsalzlösung (PL) (62).

Versuchsgang:

1.) Herstellung der Verdünnungsreihe des AZ:

Der gelieferte AZ wurde in einer "arithmet. Reihe" wie folgt mit PL verdünnt:

AZ: PL wie 1 : 5; 1 : 10; 1 : 20; 1 : 30 1 : 100; 1 : 200;
..... 1 : 500; + AZ (konz).

Es wurden 16 Röhrchen mit jeweils einer verschiedenen AZ-Konzentration erhalten.

2.) Es wurden 16 Röhrchen mit einem Gemisch Ery-Susp. - PL bereitgestellt: Jeweils 0,5 ml Ery-Susp. + 1 ml PL.

3.) Zu diesen Röhrchen wurde 0,5 ml von jeweils einer der in b) 1.) hergestellten AZ-Verdünnungen gegeben.

Es wurde ein hämolytisches System von gleicher Erythrozytenmenge, aber von verschiedener AZ-Konzentration erhalten.

4.) Zu diesem hämolyt. System wurde zur Durchführung der Hämolyse 1 ml Komplementverdünnung in der im Komplementvorversuch ermittelten Komplementkonzentration gegeben.

5.) Das Ganze wurde 1 Stunde lang in einer Temperatur von 37°C bebrütet.

6.) Die geringste AZ-Konzentration, bei der nach 60 Minuten langem Bebrüten gerade noch eine vollständige Hämolyse erzielt wurde, ist die sogenannte Gebrauchsverdünnung.

Um irgendwelche Fehlerquellen auszuschalten und um eine mindestens gut ausreichende AZ-Menge für jeden Versuch zu erhalten, wurde in den Versuchen mit der 5-fachen Konzentration der Grundverdünnung, der Gebrauchsdosis, gearbeitet.

z.B. 100 % Hämolyse bei Verd. 1 : 40 (= Grundverdünnung)

Gebrauchsdosis = Grundverdünnung mal 5, also:

$$1/40 \times 5 = 1/8 \text{ (= Gebrauchsdosis)}$$

Mit dieser Gebrauchsdosis wurde gearbeitet, solange mit einem AZ der Chargennummer gearbeitet wurde.

B. Hauptversuch:

Material:

- a) 2 %ige Ery-Suspension.
- b) AZ in der Gebrauchsdosis.
- c) Komplement in Form von Serum!
- d) Veronal-gepufferte physiol. Kochsalzlösung (62).

Versuchsgang:

1.) Sensibilisierung der Blutkörperchen.

Zu der erforderlichen Menge Ery-Suspension (2 %) wurde die gleiche Menge AZ gegeben - in der im Vorversuch bestimmten Gebrauchsdosis. Das Gemisch (hämolytisches System) wurde 30 Minuten lang unter 37°C bebrütet.

2.) Während das hämolyt. System bebrütet wurde, wurde die Verdünnungsreihe für die Komplementverdünnung aufgestellt. Diese wurde bereits jetzt vorbereitet, um die eigentliche Komplementverdünnung und die Zugabe des Komplements zum hämolytischen System in möglichst kurzer Zeit erledigen zu können, denn die Komplementaktivität ist ja sehr flüchtig.

Gang der Vorbereitung:

8 Reagenzgläser wurden mit PL so angefüllt, daß später bei Zugabe des Serums, das Serum in folgenden Verdünnungen vorlag:

Serum: PL wie 1 : 5; 1 : 10; 1 : 15; 1 : 20; 1 : 25; 1 : 30; 1 : 35; 1 : 40.
= flgd. Menge PL: 2,0; 1,8; 1,4; 1,9; 2,4; 2,9; 3,4; 3,9 ml.

3.) Als nächstes wurde in 8 Röhrchen die jeweils gleiche Menge der Suspension von sensibilisiertem Erys gegeben (0,5 ml), dazu 1 ml PL.

Außerdem zum Vergleich:

a) Ein Röhrchen mit 1 ml Aqu. dest. und 0,5 ml Erythrozyten-Suspension. Es soll damit eine 100-prozentige Hämolyse erzeugt werden. Die Farbintensität ist der eine Eichpunkt, der später im Photometer eingestellt wird.

b) Ein Röhrchen mit 1,5 ml PL + 0,5 ml Ery-Suspension.

Hier wurde statt des, wie im nächsten Absatz beschriebenen, Komplementes 0,5 ml PL mehr hinzugegeben.

Es soll ein Röhrchen ohne Hämolyse erhalten werden, wonach der andere Eichpunkt des Photometers eingestellt wird.

4.) Verdünnen des Serums (Komplement):

In großer Eile, um den Aktivitätsschwund auf ein Minimum zu beschränken, wurde zu den in B 2.) beschriebenen Röhrchen 0,5 ml (bei Verd. 1 : 5), 0,2 ml (bei Verd. 1 : 10), bei den übrigen Röhrchen 0,1 ml des zu untersuchenden Serums gegeben.

Das Serum wurde aus dem tiefgefrorenen Zustand langsam bis zur Temperatur von 0°C (schwimmendes Eis) aufgetaut und bei dieser Temperatur verdünnt.

Der Rest des Serums wurde für die Immunelektrophorese beiseite gestellt.

5.) Zusammenbringen des hämolytischen Systems mit den Komplementverdünnungen:

Zu jedem der in Punkt B 3.) beschriebenen Röhrchen wurde nun 0,5 ml eines entsprechenden Verdünnungsgrades des Versuchsserums gegeben.

6.) Bebrütung und weitere Behandlung des Gemisches:

Damit sich nun die bestmögliche Hämolyse entwickeln kann, wurden die Röhrchen 1 Std. lang im Brutschrank bei 37°C aufbewahrt; anschließend daran 1 Std. lang im Kühlschrank bei 4°C (nach WALTON und ELLIS 112).

Das nun entstandene Hämolysat wurde von den nicht hämolysierten Erys durch Zentrifugation (5 Min. bei 3000 Umdrehungen pro Min.) getrennt. Das Hämolysat wurde abgegossen und im Photometer dessen Färbung gemessen.

Messung und Auswertung der Komplementaktivität

1.) Vorbereitung des Photometers

- a) Die Lichtstrahlen des Photometers wurden nach Durchgang durch das Hämolysat durch einen Absorptionsfilter von 471 nm abgefiltert, damit störende Eigenfarben des Serums eliminiert werden konnten.
- b) Vor den eigentlichen Abmessungen wurden im Photometer die Werte der 100-prozentigen Hämolyse und im Gegensatz dazu die Werte einer nicht stattgehabten Hämolyse (mit PL und ungelösten Erys) eingestellt.

Für die 100-prozentige Hämolyse wurde der Wert 1 der Log. -Skala, für die "0-prozentige Hämolyse" wurde der Wert 0 der Log. -Skala eingestellt.

Wie weiter oben bereits angedeutet, mußte das Photometer vorher eingerichtet werden, um die von Versuch zu Versuch geringfügig schwankenden Werte der Blutkörperchen-Suspension auszugleichen.

- 2.) Nach diesen Vorbereitungen wurden die verschiedenen Hämolysegrade einer Verdünnungsreihe im Photometer gemessen und auf der unteren, der logarithmischen Skala abgelesen.

Mit 100 multipliziert, ergeben diese Werte den Prozentsatz der Hämolyse

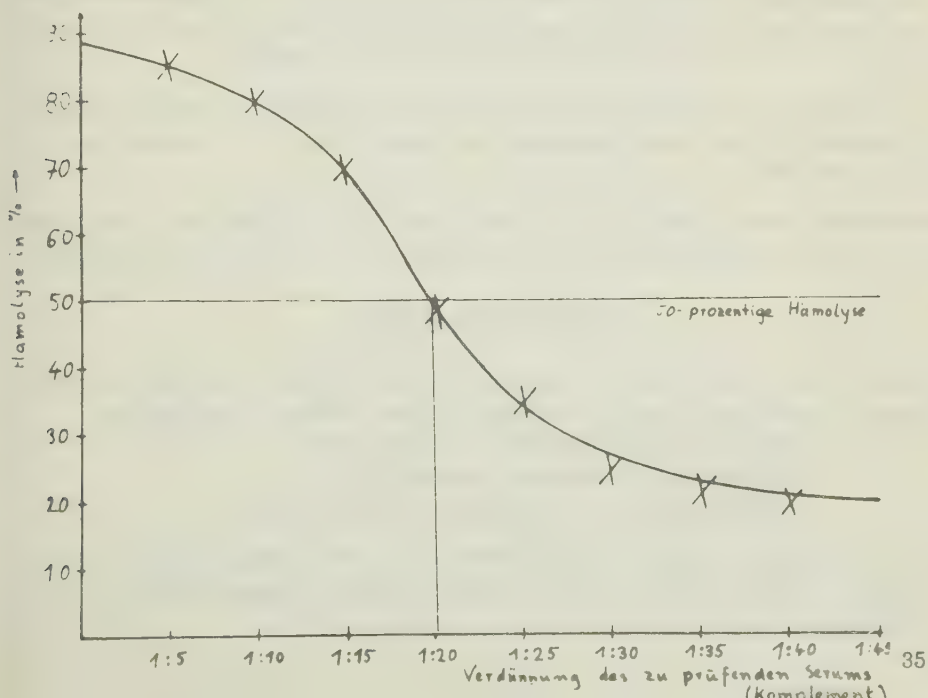
Diese Werte wurden auf Millimeterpapier aufgetragen und die Punkte miteinander verbunden. Es entstand eine etwa S-förmige Kurve. An Hand der Kurve konnte auch der Wert der 50-prozentigen Hämolyse bestimmt werden.

Es sei folgendes Beispiel aufgeführt:

Hämolysegrade bei jeweiliger Serumverdünnung

Datum	Name	100 %	1 : 5	1 : 10	1 : 15	1 : 20	1 : 25	1 : 30	1 : 35	1 : 40
20. 4.	L. C.	1,0	0,88	0,80	0,65	0,48	0,34	0,266	0,215	0,13

Die Übertragung der Werte in ein Koordinatensystem sei hier dargestellt.



Versuchsgang der Immunelektrophorese

Parallel zu den Komplementaktivitätsbestimmungen wurde die Immunelektrophorese durchgeführt, um die Veränderungen im Bereich der β_1 -A- β_1 -C-Globulinfraktion zu berücksichtigen.

Es wurde nach der Methode von SCHEIDEGGER, doch mit geringen Modifizierungen gearbeitet (95).

1,2 %iger Agar wurde durch Zugabe von 1,2 g Reinagar zu 66,5 ml Veronalpuffer und 33,5 ml Aqua dest., sowie 0,01 g Ciolet hergestellt und bis zur Verflüssigung erwärmt. Jeweils 2,5 ml flüssigen Agars wurde auf fettfreie Objektträger gegeben.

Nach Erstarrung der Agarmasse wurden die Antigen-Antikörper-Lager eingestantzt. Das zu untersuchende Antigen wurde in das ausgestanzte Antigenlager eingegeben.

Daraufhin wurde der so beschickte Objektträger in die Immunelektrophoresekammer eingelegt und das Antigen (Patientenserum) unter Verwendung des Veronalpuffers und unter Anlegen einer Spannung von 6 V/cm in seine Eiweißfraktionen zerlegt.

Nach Auftrennung des Antigens wurden die Antiseren in Form von Antihumanserum der Ziege in das Antikörperlager eingefüllt und das Präparat für 16 - 18 Stunden in feuchter Kammer bei Zimmertemperatur gehalten.

Nach Bildung der Präcipitationslinien wurden die Präparate 24 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschließend im Brutschrank bei 37°C getrocknet.

Schließlich wurde 5 Min. mit Essigsäure fixiert, 10 - 20 Min. mit Amidoschwarz gefärbt und nach Entfärbung vor dem Photographieren in Essigsäure getrocknet.

Weitere Untersuchungen

Neben diesen beiden Hauptuntersuchungen wurden an den Seren noch folgende weitere Untersuchungen nach den herkömmlichen Methoden durchgeführt:

Rheumafaktoragglutinationstest (Latex-Test)

Nachweis des C-reaktiven Proteins (CRP)

Elektrophorese zur Bestimmung der α_2 -Fraktion.

Für die Auswertung wurde weiterhin das Alter des Patienten, die Dauer und das Stadium der Erkrankung, sowie die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS) berücksichtigt.

Die Erkrankung wurde nach der Stadieneinteilung von FÄHNDRICH, HALLHUBER und TICHY (21) geordnet:

- Stadium I: Serologische Zeichen der PCP vorhanden.
Gelenkdeformierungen, Funktionsbehinderungen und röntgenologische Veränderungen fehlen.
- Stadium II: An sämtlichen Gelenken nur geringe Weichteilschwellungen, keine nennenswerte Funktionsbehinderung und röntgenolog. nur mäßige Verschmälerung des Gelenkspaltes, kleine ossäre Usuren, bzw. subchondrale Nekrosen erkennbar. Schmerzen evtl. schon recht erheblich.
- Stadium III: Mindestens in einem Gelenk stärkere Deformierungen, Funktionsstörungen und Röntgenbefunde. Meist aber nur geringe Veränderungen.
- Stadium IV: Bereits schwere Gelenkveränderung, zeitweilige Inanspruchnahme fremder Hilfe. Oft schon Bettlägerigkeit.
- Stadium V: Schwerste Veränderungen. Vollkommene Pflegebedürftigkeit.
- Die Versuchsergebnisse wurden auf folgenden beiden Listen zusammengefaßt:

Versuchsergebnisse bei Gesunden

NAME der gesunden Versuchsperson	50 %-Hämol. b. Verd. + Co-E		Beobachtungen in der Immunelektrophorese			
			β_{1-C} -Gehalt	β_{1-C} -Linie	β_{1-A} -Linie angedeutet	β_{1-C} m. vollst. β_{1-A} -Linie
1. A., H.	1:12,8	1,28	Immunelektrophorese mislungen			
2. A.	1:13,5	1,35	normal	+	+	-
3. B., S.	1:10	1,0	Immunelektrophorese mislungen			
4. B., P.	1:11,5	1,15	normal	+	+	(+)
5. B., M.	1:9	0,9	"	+	+	(+)
6. B.	1:12,5	1,25	"	+	-	-
7. D., E.	1:12,5	1,25	"	+	-	-
8. G.	1:12,5	1,25	"	+	-	-
9. H., W.	1:8	0,8	"	+	-	-
10. H., M.	1:11,5	1,15	"	+	+	-
11. H.	1:8	0,8	"	+	-	-
12. H., J.	1:13	1,3	"	+	+	-
13. H., W.	1:13	1,3	"	+	+	-
14. K.	1:10,5	1,05	"	+	-	-
15. L., G.	1:13,2	1,32	Immunelektrophorese mislungen			
16. M., H.	1:11,5	1,15	normal	+	-	-
17. M., Th.	1:12,5	1,25	"	+	-	-
18. M., F.	1:13	1,3	"	+	-	-
19. M., I.	1:11	1,10	"	+	-	-
20. M., M.	1:7	0,7	"	+	-	-
21. M., Ch.	1:12,7	1,27	"	+	+	+
22. N., H.	1:9,5	0,95	Immunelektrophorese mislungen			
23. N., R.	1:11	1,10	normal	+	+	+
24. O., H.	1:12,5	1,25	"	+	-	-
25. S.	1:12	1,2	"	+	-	-
26. S., V.	1:10	1,0	"	+	-	-
27. S., J.	1:9	0,9	"	+	+	+
28. Z.	1:15	1,5	"	+	-	-

Versuchsgebäude bei Partanen

Name	Alter	Zeitraum der Erziehung	Studien der Erziehung	IKS	CM	Latex	Flaser	50 %-Häufigkeit b Verdichtung	C-E	Beobachtungen i. d. Immunoelektrophorese	1-C-Gehalt	1-C-Linien	1-A-Linien	1-C-Linien	1-A-Linien	1-C-Linien	1-A-Linien
1. B., A.	49	ca. 30 J.	B	43/81	++	1:50	12,6	1:16,8	1,68	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,68	1:16,8	1:16,8	1:16,8	1:16,8	1:16,8	1:16,8
2. B., J.	66	7 J.	III	55/55	+++	1:100	12,0	1:15,0	1,50	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,50	1:15,0	1:15,0	1:15,0	1:15,0	1:15,0	1:15,0
3. B., M.	64	13 J.	II-III	53/53	++	1:50	8,8	1:21,7	2,17	Immunoelektrophorese mäßigungen	2,17	1:21,7	1:21,7	1:21,7	1:21,7	1:21,7	1:21,7
4. B.	67	2 J.	II	13/37	β	1:40	11,3	1:16,8	1,68	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,68	1:16,8	1:16,8	1:16,8	1:16,8	1:16,8	1:16,8
5. G., E.	51	11 J.	III-IV	27/50	++	1:100	11,4	1:29	2,9	Immunoelektrophorese mäßigungen	2,9	1:29	1:29	1:29	1:29	1:29	1:29
6. G., E.	68	4 J.	III	34/71	+	1:40	10,3	1:16,7	1,67	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,67	1:16,7	1:16,7	1:16,7	1:16,7	1:16,7	1:16,7
7. H.	50	9 J.	III	28/55	+	1:40	10,1	1:16	1,6	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,6	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16
8. H., M.	52	2 J.	II	27/54	++	1:20	8,2	1:18	1,8	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,8	1:18	1:18	1:18	1:18	1:18	1:18
9. H., E.	30	16 J.	II	19/33	++	1:40	9,8	1:17	1,7	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,7	1:17	1:17	1:17	1:17	1:17	1:17
10. K., J.	41	1 J.	II	16/32	++	1:100	10,3	1:13,8	1,33	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,33	1:13,8	1:13,8	1:13,8	1:13,8	1:13,8	1:13,8
11. L., A.	49	13 J.	III	25/55	β	1:40	11,6	1:23	2,3	Immunoelektrophorese mäßigungen	2,3	1:23	1:23	1:23	1:23	1:23	1:23
12. L., C.	45	1 J.	II	?	+++	1:100	15,3	1:14,5	1,55	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,55	1:14,5	1:14,5	1:14,5	1:14,5	1:14,5	1:14,5
13. M., A.	54	27 J.	III	21/48	+	1:20	?	1:21,7	2,1	Immunoelektrophorese mäßigungen	2,1	1:21,7	1:21,7	1:21,7	1:21,7	1:21,7	1:21,7
14. M., F.	62	9 J.	III	27/41	+	1:50	13,9	1:18	1,8	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,8	1:18	1:18	1:18	1:18	1:18	1:18
15. M., M.	50	10 J.	III-III	?	β	1:100	?	1:23	2,3	Immunoelektrophorese mäßigungen	2,3	1:23	1:23	1:23	1:23	1:23	1:23
16. M., M.	65	1 J.	II	31/50	+	1:20	10,0	1:13	1,3	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,3	1:13	1:13	1:13	1:13	1:13	1:13
17. P.	76	3 J.	III	59/59	+	1:50	?	1:16,7	1,67	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,67	1:16,7	1:16,7	1:16,7	1:16,7	1:16,7	1:16,7
18. R., V.	82	12 J.	II	?	+	1:20	10,3	1:11,6	1,15	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,15	1:11,6	1:11,6	1:11,6	1:11,6	1:11,6	1:11,6
19. R., M.	62	13 J.	II	?	β	1:20	9,9	1:11	1,1	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,1	1:11	1:11	1:11	1:11	1:11	1:11
20. R., M.	41	1 J.	I	8/21	+	1:20	13,2	1:18,3	1,83	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,83	1:18,3	1:18,3	1:18,3	1:18,3	1:18,3	1:18,3
21. S.	78	9 J.	II	?	+++	1:100	8,1	1:19,7	1,97	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,97	1:19,7	1:19,7	1:19,7	1:19,7	1:19,7	1:19,7
22. S., K.	61	1 J.	II	5/14	+	1:20	13,2	1:20,2	2,02	Immunoelektrophorese mäßigungen	2,02	1:20,2	1:20,2	1:20,2	1:20,2	1:20,2	1:20,2
23. S., M.	45	1 J.	II	23/58	+	1:40	11,3	1:9	0,9	Immunoelektrophorese mäßigungen	0,9	1:9	1:9	1:9	1:9	1:9	1:9
24. S., Th.	57	6 J.	I	12/28	β	1:50	9,2	1:19	1,9	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,9	1:19	1:19	1:19	1:19	1:19	1:19
25. T.	69	2 J.	III	12/28	+	1:100	11,2	1:21	2,1	Immunoelektrophorese mäßigungen	2,1	1:21	1:21	1:21	1:21	1:21	1:21
26. Z.	38	1 J.	I	5/5	++	1:320	11,3	1:15,5	1,55	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,55	1:15,5	1:15,5	1:15,5	1:15,5	1:15,5	1:15,5
27. Z.	72	43 J.	II	19/42	β	1:40	?	1:16,4	1,64	Immunoelektrophorese mäßigungen	1,64	1:16,4	1:16,4	1:16,4	1:16,4	1:16,4	1:16,4

Versuchsergebnisse - Beschreibung

Bei 28 gesunden Vergleichspersonen und 27 Patienten mit primär-chronischer Polyarthrits ergaben sich zunächst folgende Überblickswerte, wie sie aus nachstehender Tabelle ersichtlich sind:

Es ist deutlich, daß bei Seren von Kranken eine wesentlich weitergehendere Verdünnung, beziehungsweise eine wesentlich geringere Menge im Vergleich zu den Seren Gesunder ausreicht, um die fünfzigprozentige Hämolyse der zwei-prozentigen Suspension von Hammelblutkörperchen zu erreichen.

Die Komplementaktivität ist also bei den Seren der Kranken erhöht.

Im Einzelnen waren die Mittelwerte des Serumbedarfs, der zu einer fünfzigprozentigen Hämolyse führte, bei den Kranken gegenüber den Gesunden um folgende Größen erhöht:

In der Serumverdünnungsreihe konnte bei den Patientenserum bis zu dem Verhältnis von 1 : 17,2 (Serum : Verdünnungsflüssigkeit) verdünnt werden, während bei den Seren Gesunder nur bis zu dem Verhältnis 1 : 11,35 gegangen werden konnte. Dies entspricht einer um einen Betrag von 0,015 ml geringeren Menge Serum zur Erzielung der gleichen Wirkung. Daraus läßt sich errechnen, daß die Komplementaktivität in den Patientenserum gegenüber der in Normalserum um durchschnittlich 0,59 Co-E (= Komplementeinheiten) erhöht ist.

	GESUNDE			KRANKE		
	50 % Hämolyse bei			50 % Hämolyse bei		
	Serum- Verdünnung	Serum- menge (ml)	Co-E ¹⁾	Serum- Verdünnung	Serum- menge (ml)	Co-E ¹⁾
Mittelwert	1 : 11,35	0,044	1,13	1 : 17,2	0,029	1,72
Maximalwert	1 : 15	0,033	1,5	1 : 29	0,0179	2,9
Minimalwert	1 : 7	0,71	0,7	1 : 9	0,55	0,9

¹⁾ Co-E: Ein Serum enthält 1 Co-E (= Komplement-Einheit), wenn eine Serumverdünnung von 1 : 10 eine Hämolyse von 50 % ergibt.

Tab. II: ZUSAMMENFASSUNG DER MESSWERTE

Die Aktivitätswerte verhalten sich bei der Gesamtzahl der Kranken und Gesunden wie in Abb. I aufgezeichnet.

Abb. I: Gesunde und Kranke verglichen

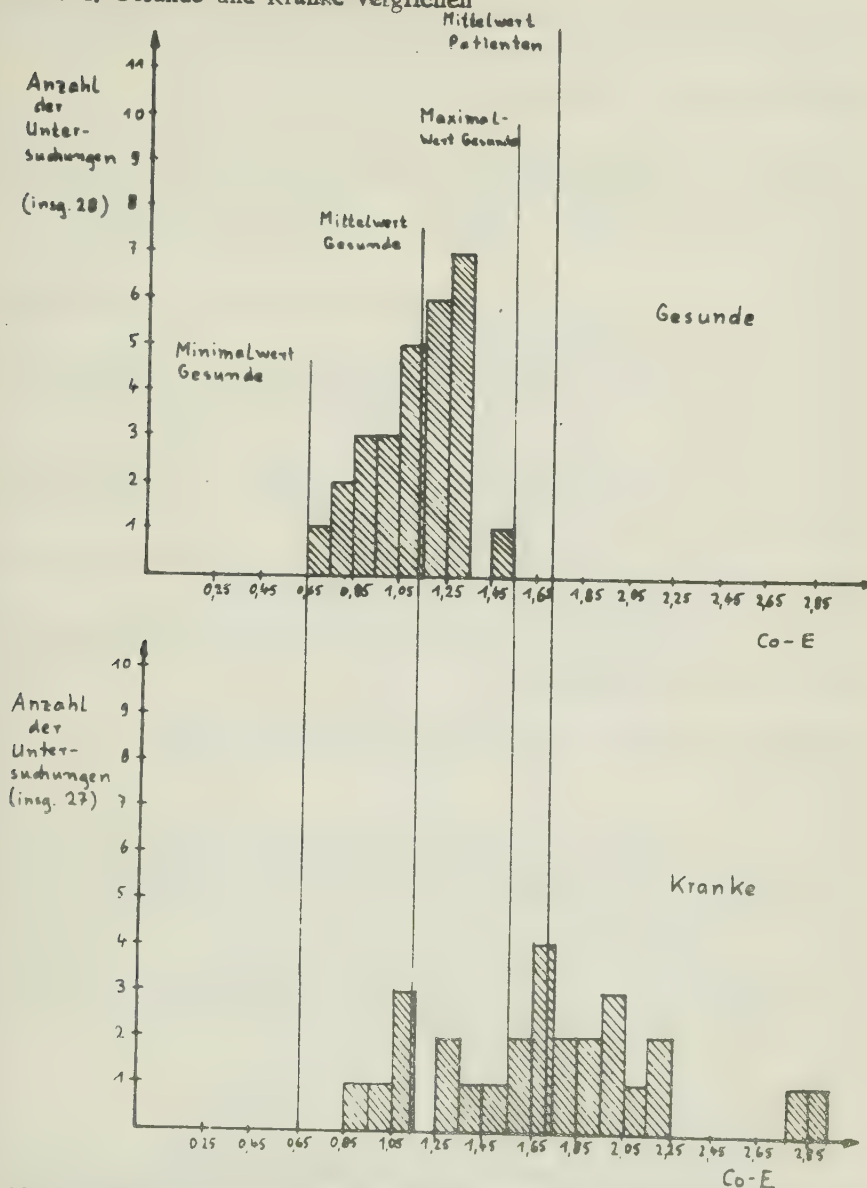


Abb.: VERTEILUNG DER KOMPLEMENTTITERWERTE AUF DIE ANZAHL DER UNTERSUCHTEN GESUNDEN UND KRANKEN PERSONEN. - VERGLEICH DER WERTE.

Die Komplementaktivitätswerte der gesunden Vergleichspersonen waren, wie bereits erwähnt, wesentlich einheitlicher und niedriger als die der Patienten mit primär-chronischer Polyarthrit.

Die Patientenserum wiesen sehr unterschiedliche Werte auf. Nur 4 der 27 Patienten wiesen eine Komplementaktivität auf, die geringer als die durchschnittliche Komplementaktivität der Gesunden ist, während bei den restlichen 23 Serum Aktivitätswerte gemessen wurden, die über dem normalen Mittelwert lagen.

Bei 8 Patienten ließ sich eine Komplementaktivität messen, die innerhalb des Streuungsbereiches der Normalwerte auftrat.

Die restlichen 19 Patienten, also die überwiegende Mehrheit, besaßen einen Komplementtiterwert, der über dem normalen Maximum gemessen wurde.

Bei 2 Patienten wurden Werte gemessen, die, selbst im Vergleich zu den anderen Kranken, sehr stark erhöht waren. Der Durchschnitt der Komplementaktivität bei Kranken liegt bekanntlich bei 1,72 Co-E.

Bei keinem Patienten wurde eine Komplementaktivität nachgewiesen, die so niedrig wie der geringste Titerwert bei den Normalserum lag.

Als nächstes wirft sich die Frage nach der Abhängigkeit der Komplementaktivität vom Alter des Patienten auf.

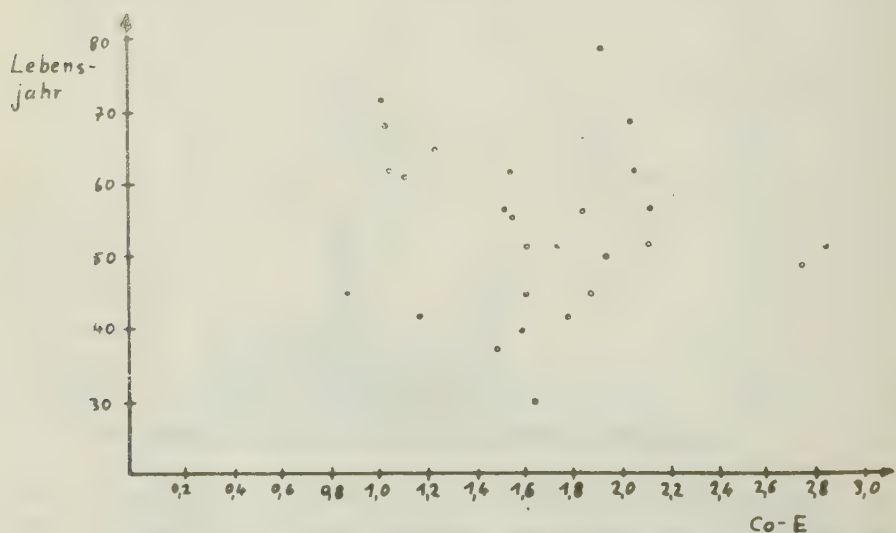


Abb. II: KOMPLEMENTTITERWERTE NACH DEM ALTER DER PATIENTEN GEORDNET

Die Komplementaktivitätserhöhung ist diffus über alle, von uns untersuchten Altersstufen verstreut.

Die Komplementveränderung scheint also nicht von dem Alter des Patienten abhängig zu sein.

Hängt die Komplementaktivität mit der Dauer der Erkrankung zusammen?

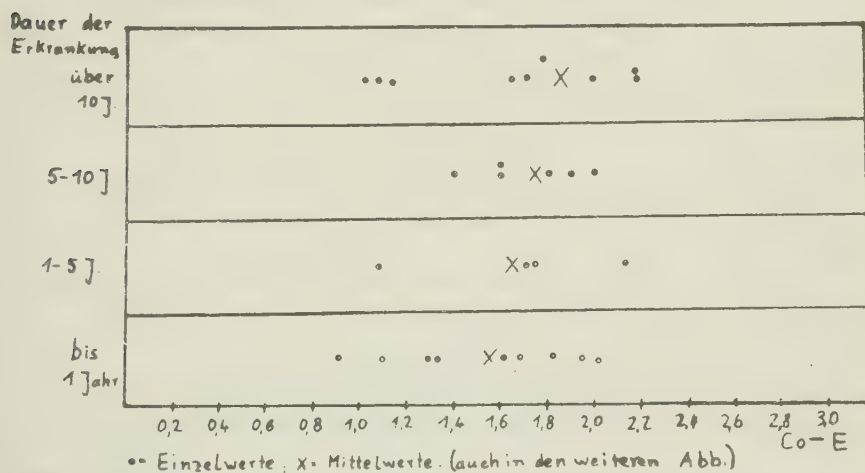


Abb. III: KOMPLEMENTTITERWERTE NACH DER DAUER DER ERKRANKUNG GEORDNET

Im allgemeinen läßt sich keine Abhängigkeit der Titerhöhe von der Krankheitsdauer erkennen. Lediglich die beiden höchsten Titerwerte wurden bei Patienten angetroffen, die bereits über 10 Jahre an primär-chronischer Polyarthritis leiden.

Bestimmt man in jeder Stufe den Mittelwert, so läßt sich ein unbedeutendes Ansteigen des Mittelwertes mit der Dauer der Erkrankung erkennen.

Ein Vergleich der Komplementaktivität mit der Aktivität des Rheumafaktors ergab folgendes:

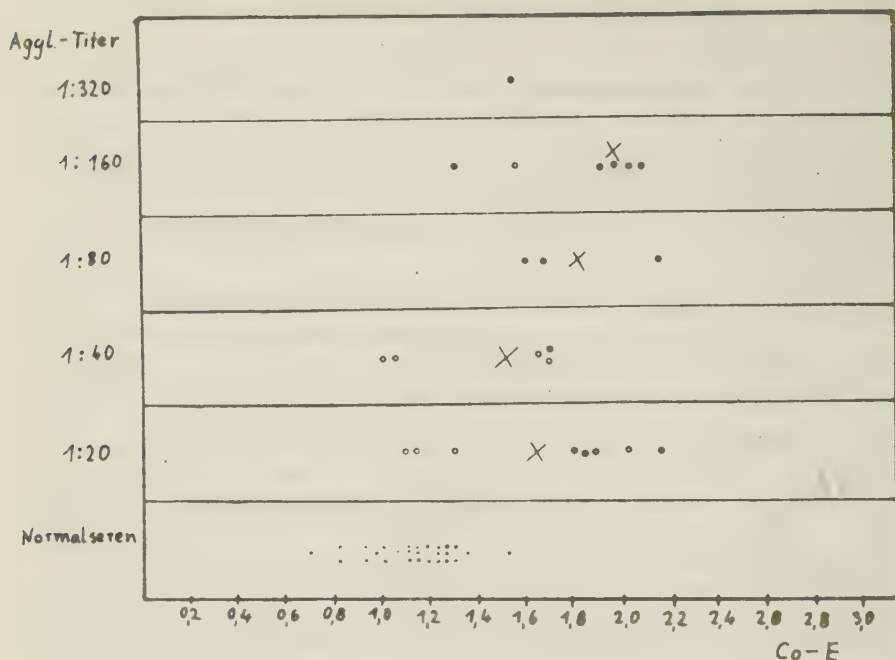


Abb. IV: KOMPLEMENTTITERWERTE NACH DEM AUSFALL DES AGGLUTINATIONSTITERS DES LATEX-TROPFENTESTS GEORDET

Die Titerwerte der Normalseren seien hier nur zum besseren Vergleich angeführt.

Werden die Mittelwerte der nach den Agglutinationstitern im Latex-Tropfentest geordneten Komplementtiterwerte bestimmt, so läßt sich unter Berücksichtigung aller Werte kein Vergleich der Latex-Grade mit dem Komplementtiter ziehen.

Läßt man den nur einmal gemessenen Rheumafaktor-Titer von 1 : 320 unberücksichtigt, so ließe sich nach obiger Abbildung eine unbedeutende Komplementtiterrhöhung mit Ansteigen des Rheumafaktortiterwertes herauslesen.

Eine absolute Abhängigkeit des Komplementtiters vom Rheumafaktortiter besteht jedoch nicht.

Weiterhin wurde die Komplementaktivität mit dem Krankheitsstadium verglichen (die Stadieneinteilung wurde bereits weiter vorne beschrieben).

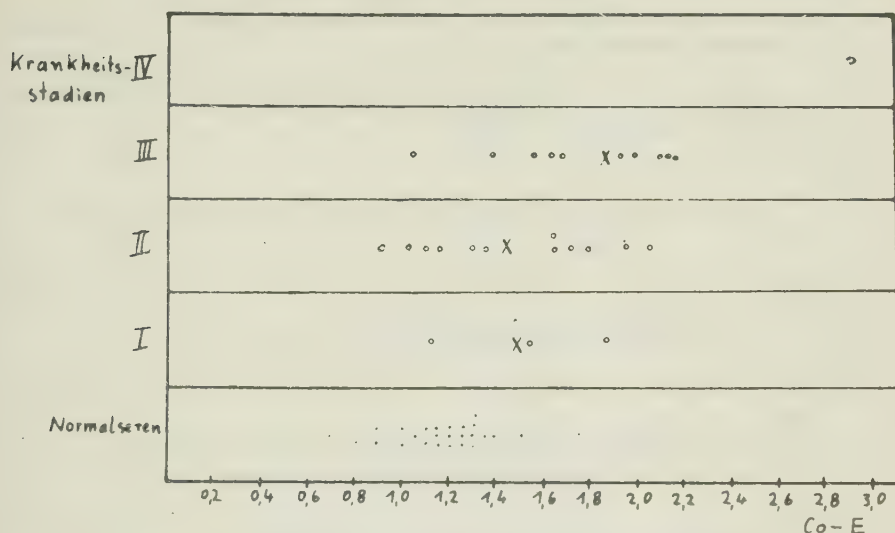


Abb. V: KOMPLEMENTTITERWERTE NACH DEM KRANKHEITSSTADIUM GEORDNET

Es fällt auf, daß der höchste Titerwert im schwersten Krankheitsstadium beobachtet wurde. Die weiteren Werte sind in den anderen Stadien jeweils weit verstreut.

An den Mittelwerten läßt sich erkennen, daß mit der Schwere des Krankheitsbildes der Komplementtiter steigt. Dies wird besonders deutlich, wenn man den einen Wert in Stadium IV mit in die Überlegung einbezieht. Eine absolute Abhängigkeit des Komplementtiters vom Krankheitsstadium besteht nicht.

Weitere wichtige Kriterien zur Diagnostik der primär-chronischen Polyarthrits sind:

- a) Erhöhte Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS).
- b) Erhöhung der α_2 -Fraktion der Elektrophorese auf über 10 rel. %.
- c) Das C-reaktive Protein (CRP).

Zunächst wurde versucht, jede dieser drei Gruppen einzeln mit den Komplementaktivitäten in Beziehung zu setzen;

Ad a)

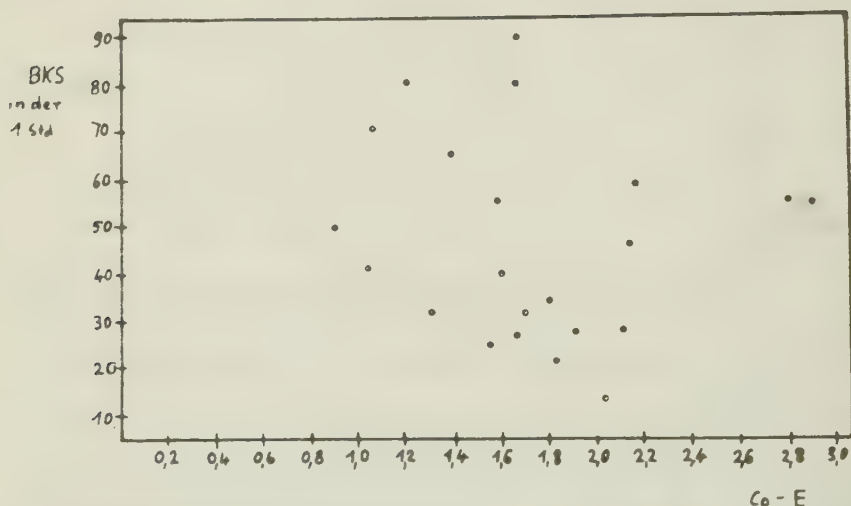


Abb. VI: BETRACHTUNG DER KOMPLEMENTTITERWERTE BEI DEN VERSCHIEDENEN BLUTKÖRPERCHENSENKUNGSGESCHWINDIGKEITEN

Wie aus obiger Abbildung ersichtlich ist, läßt sich die Komplementaktivität mit der veränderten Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nicht in Beziehung setzen.

Ad b) α_2 -Fraktion der Elektrophorese

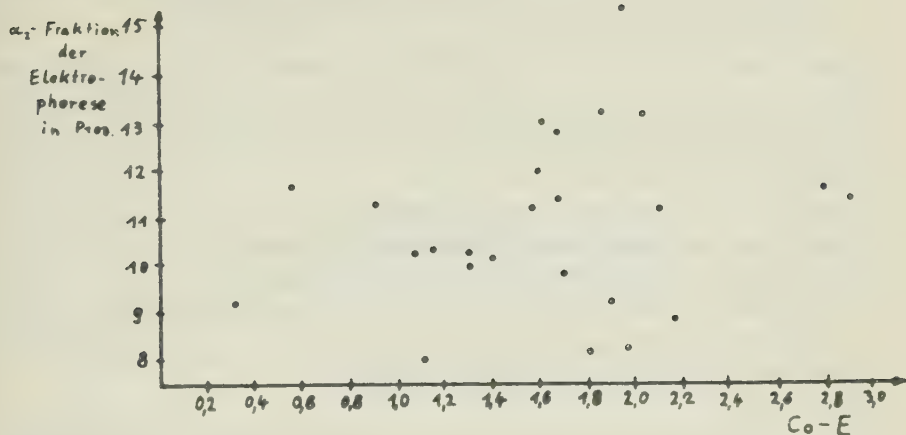


Abb. VII: VERHALTEN DER KOMPLEMENTAKTIVITÄTEN BEI ERHÖHTER α_2 -FRAKTION DER ELEKTROPHORESE

Der Vergleich der α_2 -Fraktion mit den Komplementtitern lässt keinerlei Zusammenhänge erkennen.

Ad c)

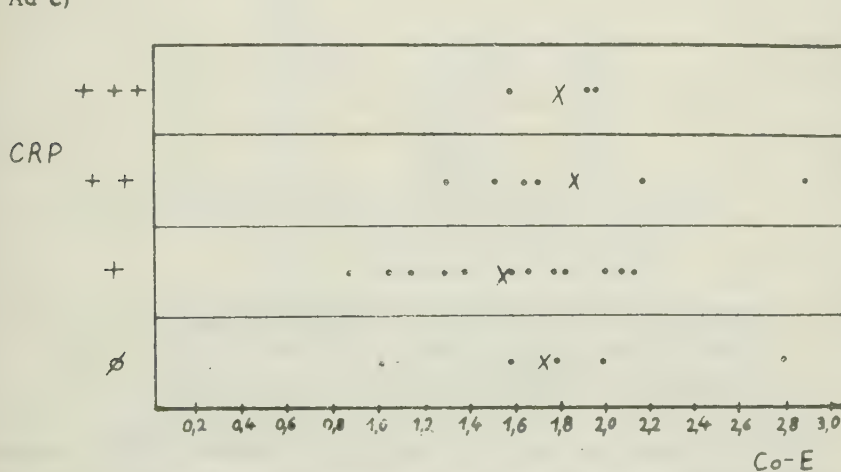


Abb. VIII: KOMPLEMENTTITERWERTE BEI DEN VERSCHIEDENEN INTENSITÄTEN DES C-REAKTIVEN PROTEINS

Ebensowenig wie mit der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit und den elektrophoretischen Veränderungen stehen die Komplementtiterwerte auch mit der Intensität des C-reaktiven Proteins in keinem Zusammenhang.

Wurden bisher die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen getrennt mit dem Komplementtiter verglichen, so sollen jetzt die BKS, die α_2 -Fraktion und das CRP zueinander in Gruppen geordnet mit der Komplementaktivität verglichen werden.

Es wurde das Verhalten der Komplementaktivität bei

- pathologischem Befund aller drei Meßwerte (= Zeile IV),
- pathologischem Befund zweier Meßwerte (= Zeile III),
- pathologischem Befund bei nur einer der drei beschriebenen Untersuchungen (= Zeile II),
- normalem BKS, α_2 und CRP (= Zeile I) untersucht.

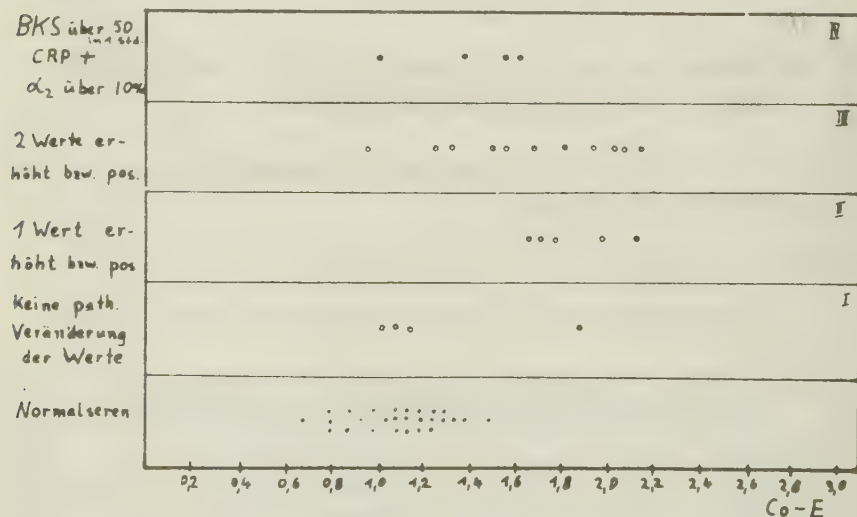


Abb. IX: KOMPLEMENTTITERWERTE BEI PATHOLOGISCHER VERÄNDERUNG KEINES, EINES, ZWEIER ODER ALLER DREI IN DEN LETZTEN 3 ABILDUNGEN ERWÄHNTEN MESSWERTE

Zum Vergleich wurden wiederum die Werte der Normalseren in die Abbildung mit eingezeichnet.

Es kann kein Zusammenhang erkannt werden.

Beschreibung und Auswertung der immunelektrophoretischen

Untersuchungen

Von den 24 untersuchten Seren gesunder Vergleichspersonen zeigten alle die β_1 -C-Präcipitationslinie, bei 9 von diesen 24 ließ sich außer der β_1 -C-Linie noch eine angegedeutete β_1 -A-Linie erkennen, und bei 5 von diesen 9 Personen war die β_1 -A-Linie voll vorhanden. In Abb. X wurden diese Ergebnisse geordnet eingetragen, und zwar zeigt die linke Säule an, bei wievielen Untersuchungen die β_1 -C-Linie allein vorhanden war, die mittlere Säule zeigt, wie oft die β_1 -A-Linie nur angegedeutet war, und die rechte Säule schließlich zeigt, wie häufig die β_1 -A-Linie neben der β_1 -C-Linie voll vorhanden war.

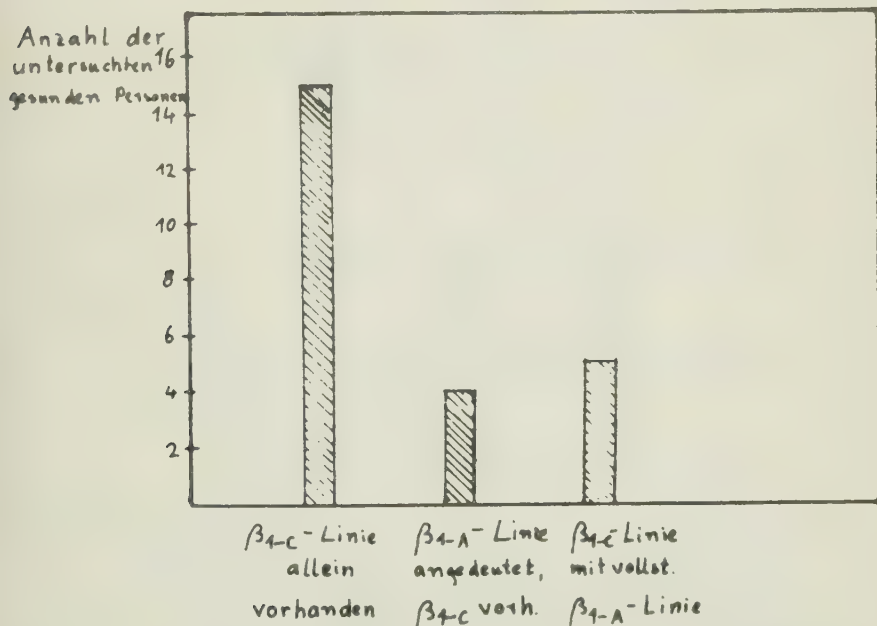


Abb. X: DIE VERSCHIEDENEN PRÄCIPITATIONSLINIEN BEI DEN GESUNDEN VERGLEICHSPERSONEN

Werden die Werte der Gesunden mit den Untersuchungsergebnissen bei den Patientenserien verglichen, so fällt vor allem auf, daß nur bei 5 von 21 Untersuchungen eine alleinige β_1 -C-Präcipitationslinie vorhanden war, also auf eine ungeschwächte Aktivität der C'_3 -Komponente hindeutet, während von den restlichen 16 Untersuchungsergebnissen mit angedeuteter β_1 -A-Linie bei 12 wiederum die β_1 -A-Linie voll ausgeprägt war.

Auch hier wurden die Ergebnisse - entsprechend den Untersuchungen von Normalseren in Abb. X - in Abb. XI geordnet.

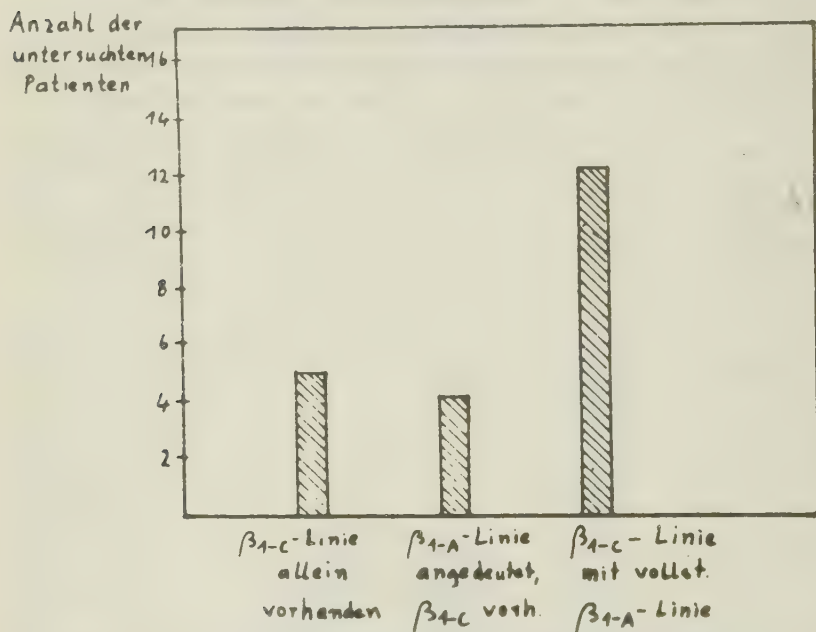


Abb. XI: DIE VERSCHIEDENEN PRÄCIPITATIONSLINIEN BEI DEN PATIENTEN

Werden die Abb. X und XI miteinander verglichen, so kann man erkennen, daß die beiden Bilder etwa gegensätzliche Werte anzeigen:

- 15 von 24 Gesunden, die nur die β_1 -C-Linie aufweisen, stehen 5 von 21 Kranken, die nur die β_1 -C-Linie aufweisen, gegenüber.
- 4 von den 24 Gesunden mit angedeuteter β_1 -A-Linie stehen ebenso viele Kranke mit dem gleichen Bild gegenüber.
- Nur 5 von den 24 Gesunden, dafür aber 12 von den 21 Kranken weisen eine komplette β_1 -C - β_1 -A-Linie auf.

Ein Vergleich der Präcipitationslinien mit den Komplementtiterwerten, wie er in den Abb. XII und XIII erfolgte, ergab folgendes:

Gesunde

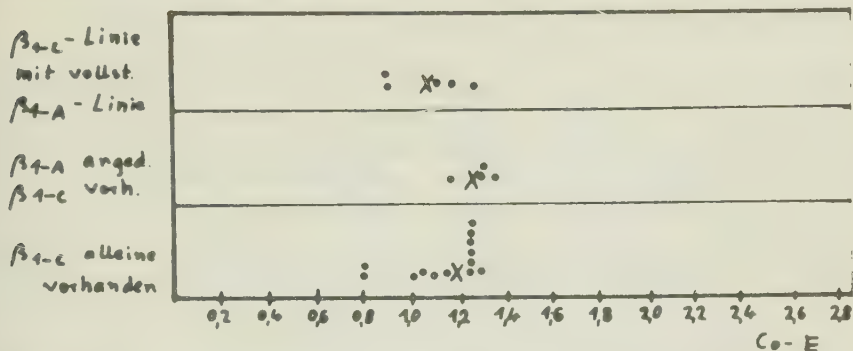


Abb. XII: KOMPLEMENTTITERWERTE NACH DEN CHARAKTERISTISCHEN PRÄCIPITATIONSLINIEN GEORDET - GESUNDE.

Kranke

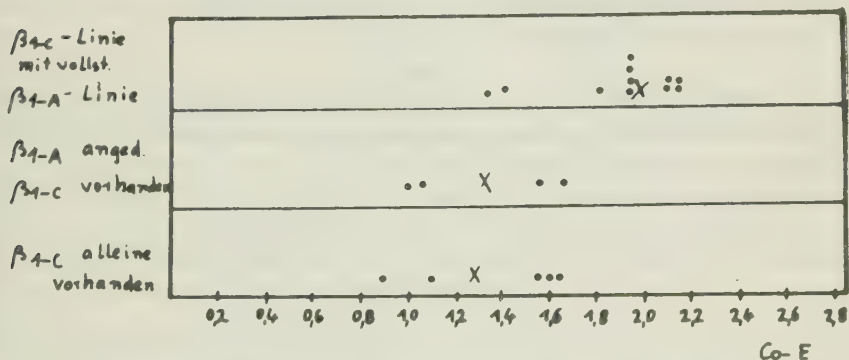


Abb. XIII: KOMPLEMENTTITERWERTE NACH DEN CHARAKTERISTISCHEN PRÄCIPITATIONSLINIEN GEORDET. - KRANKE.

Bei Gesunden (Abb. XII) ergaben sich bei allen 3 Arten der Präcipitationslinien etwa die gleichen Werte und Mittelwerte.

Bei Kranken (Abb. XIII) war bei der vollen β_{1-C} - β_{1-A} -Linie die größte Streuung der Komplementaktivität, der Maximalwert unserer Messungen und der höchste Mittelwert zu finden.

Das bedeutet, daß bei stärkstem Abbau der C_3 -Komponenten die höchsten Werte der Aktivität des Gesamtkomplements gemessen wurden.

Bei den beiden anderen Gruppen der Präcipitationslinien waren die Streuung und die Mittelwerte der Komplementaktivität geringer.

Abschließend seien die Präcipitationslinien noch mit der Rheumafaktoraktivität (Latex-Test) verglichen.

β_{1-C} -Linie mit vollständiger β_{1-A} -Linie							III
β_{1-A} anged. β_{1-C} vorh.							II
β_{1-C} allein vorhanden							I
Latex	Ø	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	

Abb. XIV: PRÄCIPITATIONS LINIEN NACH DEN ERGEBNISSEN DES LATEX-TROPFENTESTES GEORDNET

Bei vollständig vorhandenem β_{1-C} - β_{1-A} -Komplex zeigt sich auch die stärkste Rheumafaktoraktivität. Eine Ausnahme ist hier lediglich der Grad 1:320 in der Stufe II.

C. DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit konnte festgestellt werden, daß die Komplementaktivität in den Seren von Kranken mit primär-chronischer Polyarthrits im Mittel höher ist als die Komplementaktivität in den Seren gesunder Menschen und daß die Komplementaktivität bei Betrachtung der Mittelwerte unbedeutend mit der Schwere des Krankheitsbildes zunimmt, wie es die Vergleiche mit den verschiedenen klinischen Werten erkennen lassen. Der Befund einer Komplementtitererhöhung entspricht etwa den Beobachtungen von VAUGHAN, BAYLES und FAVOUR (110), mit Einschränkung denen von ELLIS und FELIX-DAVIS (19), LAURELL-GRUBB (46) und RACHMILEWITZ und SILBERSTEIN (zit. nach MATHIES-Habil. -Schrift 59). Andererseits widerspricht unser Befund den Feststellungen von PERLICK und TOST (76), ferner denen von PALLESKE (74), JORDAN (41) und GEIDEL (29).

Nach dem Nachweis einer allgemeinen Komplementtitererhöhung in diesen Seren wurde die festgestellte Aktivitätssteigerung mit anderen, für diese Krankheit typischen Veränderungen verglichen. Dabei zeigte sich, daß mit der Dauer und dem Schweregrad der Erkrankung (Einteilung nach HALLHUBER - vergleiche S. 37) die Aktivität des Komplements ansteigt. Dahingegen konnte kein sicherer Zusammenhang zwischen der Komplementaktivität und dem Alter des Patienten, dem Ausfall des Latexagglutinationstestes, der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, der α_2 -Fraktion der Elektrophorese oder dem C-reaktiven Protein erkannt werden. Über Versuche, die den eben erwähnten ähnlich sind, wurde bisher noch nicht berichtet.

MÜLLER-EBERHARD und NILSSON (67) bemerkten bei Untersuchungen der Immunelektrophorese eine Abschwächung der β_{1-C} -Präcipitationslinie, wenn eine Aktivitätsverringernng der C_3 -Komponente des Komplements vorgelegen hat.

Zusätzlich zur β_{1-C} -Linie trat dann eine andere Präcipitationslinie, die β_{1-A} -Linie, auf. Die Autoren sahen diese neu aufgetretene Linie für ein Zeichen der inaktivierten C_3 -Komponente an.

MATHIES und IMRE (39) beobachteten diese Veränderungen auch an Seren von Kranken mit primär-chronischer Polyarthrits. Es wurde sehr häufig die β_{1-A} -Präcipitationslinie gefunden. Die veränderten Präcipitationslinien wurden in meiner Arbeit ebenfalls mit der Aktivität des Gesamtkomplementes verglichen. Dabei fand sich bei verstärkter Ausbildung der β_{1-A} -Linie eine erhöhte Aktivität des Komplements, was man als einen erhöhten Umsatz mit erhöhtem

Abbau der C'_3 -Komponente im Rahmen der erhöhten Aktivität des Gesamtkomplements deuten könnte.

Auf Grund der Bildung dieser β_{1-A} -Präcipitationslinie, also des Abbaues von C'_3 , ließe sich auch denken, daß damit die Bindung des Rheumafaktors an die beladenen Latexpartikelchen (vergleiche auch S. 13) ermöglicht wird (58).

Zusammenfassung

Es wurde die Komplementaktivität in den Seren von 28 gesunden Personen mit der in den Seren von 27 Kranken, die an primär-chronischer Polyarthritiden leiden, verglichen. Es ließ sich eine allgemeine Erhöhung der Komplementaktivität in den Seren Kranker feststellen. Diese Aktivitätserhöhung konnte aber mit anderen, für die primär-chronische Polyarthritiden typischen Merkmalen nicht in Zusammenhang gebracht werden. Lediglich mit der Dauer und dem Schweregrad der Erkrankung ließ sich eine entsprechende, doch nur sehr geringfügige Steigerung der Komplementaktivität in Verbindung bringen.

Ein Vergleich der Aktivität des Gesamtkomplements mit der β_{1-A} - Linie der Immunelektrophorese läßt vermuten, daß mit Erhöhung der Komplementaktivität ein erhöhter Abbau der C_3' -Komponente verbunden ist.

- 20 ERDMANN, G. Diss. München (1949)
- 21 FÄHNDRICH, HALLHUBER und TICHY, M.J. zit. aus ABC des Rheumat. (BYK Gulden-Lomberg, Konstanz)
- 22 FAHRAEUS, R. The suspensionstab. of blood.
Diss. Stockholm 1921
Acta med. Scand. 55, 1 (1921)
- 23 FERRATA, A. Berliner klin. Wschr. 1907, 366
- 24 FISCHEL, F.E. Kongreßbl. f.d. ges. inn. Med.
Bd. 127, S. 279 u. 984
- 25 FISCHEL, F.E., PAULI, LESH, R.H. J. of clin. invest. 28, 1172 (1949)
- 26 FISCHER, H. und HAUPT, I. XV. Kolloqu. der Gesellschaft für physiologische Chemie in Mosbach/Baden am 22.4.1964, Seite 284,
Springer-Verlag (1965)
- 27 FRIEDBERGER, E. Z. Imm. Forsch. 4. 636 (1910)
- 28 FU TANG CHU, u.a. Prod. Soc. exp. Biol. & Med. 38 (1938)
- 29 GEIDEL Z. ges. inn. Med. 19, 68 (1951)
- 30 GRABAR, P. VDGIM 1960 XXVII
- 31 GRABAR, P. und WILLIAMS, C.A. Biochem. et biophysik. acta 10, 193 (1953)
- 32 GYÖFFRY u.a. Wiener med. Wschr. (1937) Seite 1027
- 33 HADJOPOULOS zit. n. Fischel Kongreßbl. f.d. ges. inn. Med. Bd. 127, Seite 279 und 948
- 34 HALLMANN, L. Bakt. und Serologie, 2. Aufl.
Gg. Thieme Stgt. (1955)
- 35 HASELER Diss. Düsseldorf 1947 (zit. Palleske, s.u. 74)
- 36 HEGEDÜS, GREINER, H. Z. Imm. Forsch. 92, 1 (1938)
- 37 HEREMANS, J. Les globulins seriques du systeme gamma, leur nature et leur path.
Bruxelles, Paris 1960
- 38 ILLENY, A. und LUDANY, G. Z. imm. Forsch. 94, 321 (1936)

- 39 IMRE, I. und MATHIES, H. Med. Mschr. 19, 313 (1965)
- 40 ISRAILIMSKY, A.S. Pediatr. Nr. 11 (1938)
- 41 JORDAN, F.L. zit. n. Palleske, Diss. Marburg 1958
- 42 KELLET, G.E., THOMSON zit. n. Fischel, Kongrbl. f. d. ges. inn. Med. Bd. 127
- 43 KLEIN, P.G. J. exp. med. 111, 77 (1960)
- 44 KLEIN, P.C. XV. Kolloquium der Ges. f. Physiol. Chemie in Mosbach/Baden am 22.4.1965, Seite 330, Springer-Verlag (1965)
- 45 KOSSOVITCH, N. u. a. r. soc. Biol. 138, 170 (1944)
- 46 LAURELL-GRUBB, R. Acta pathol. microbiol. Scand. 43 (1958)
- 47 LEPOW, I. Mechanisme of Hypersensibility p 267 Boston, Little, Brown & Cie. (1959)
- 48 LEPOW u. a. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 92, 32 (1956)
- 49 LEPOW, NAFF, TODD u. a. J. exp. Med. 117, 983 (1963)
- 50 LIEFMANN, H. Münch. med. Wschr. 56, 2097 (1907)
- 51 LINSOTT, W.B., MISHIKOA, K. J. exp. Med. 118, 795 (1963)
- 52 LÜDKE, H. zit. n. Ileny, Z. Imm. Forsch. 94, 329 (1938)
- 53 MACKIE, T.J. Trans. Roy. Soc. South Africa 8, 59 (1919)
- 54 MAIGNON, F. und THIERY, T. J. Bull. Ac. vet. France 12 (1939)
- 55 MAIGNON, F. und THIERY, T. J. C. r. Soc. Biol. 136 (1942) S. 718
- 56 MARSH, F. Nature 137, 618 (1936)
- 57 MANDELBAUM, M. Münch. Med. Wschr. a) 1038 (1916)
b) 277 (1917)
- 58 MATHIES, H. und IMRE, I. Allergie und Immunitätsforschung IX. Kongreß 1963, Bd. I, Seite 71
- 59 MATHIES, H. Habil.-Schrift München (1965)
- 60 MAYER, M.M. Progr. in Allergy 5 (1958)

- 61 MAYER, M.M. J. of Imm. 73, 443 (1954)
- 62 MAYER, M.M., EATON, B.B. Heidelberger M.J. Imm. 53, 31-5 (1964)
- 63 MAYER, M.M., OSLER, O.G. J. exp. Med. 84, 535 (1946)
und HEIDELBERGER, M.
- 64 MISAWA, F. a) Z. Imm. Forsch. 77, 477 (1932)
b) Z. Imm. Forsch. 83, 130 (1934)
- 65 MORISON, J.F. J. Immunology 7, 435 (1920)
- 66 MÜLLER und FASSIN zit. n. Illanyi Z. Imm. Forsch. 17 (1940)
- 67 MÜLLER-EBERHARD u. NILSSON J. Exp. Med. 111, 217 (1960)
- 68 MÜLLER-EBERHARD, H.J. 15. Mosb. Colloq. 1964, S. 303
Springer 1965
- 69 MUTSAARS, W. Ann. Inst. Pasteur 43, 379 (1947)
- 70 NALTON, LARRIER u. a. C. r. Soc. Biol. 126, 1095 (1937)
- 71 NELSON, R.A. Intern. Symp. of Immunopathology
Broad Lodge (1961) Verlag Benno Schwabe
Basel/Stuttgart (1962)
- 72 OPFERKUCH, W. u. a. Zschr. f. Hyg. 147, 230 (1961)
- 73 OSLER, A. u. a. J. exp. Med. 106, 811 (1957)
- 74 PALLESKE, H. Diss. Marburg 1958
- 75 PERLICK, E. a) VDGIM 1962 Seite 572
b) VDGIM 1960 Seite 914
- 76 PERLICK, E., TOST zit. n. Palleske, Diss. Marburg 1958
- 77 PILLEMER, L. Chem. Rev. 33, 1-26 (1943)
- 78 PILLEMER, L., BLUM, E. J. Imm. 71, 331 (1953)
- 79 PILLEMER, L., ECKER, E. u. a. J. exp. Med. 74, 297 (1941)
- 80 PILLEMER, L., LEPOW Ibid 339 (zit. Schmidt s. u. 96)
- 81 PILLEMER, L., SEIFTER, S. J. Imm. 40, 101 (1941)
und ECKER, E.E.
- 82 PILLEMER, L., SEIFTER, S. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 45, 115
ECKER, E.E. u. 130

- 83 PILLEMER, L., SEIFTER, S.
und ECKER, E.E. J. exp. Med. 75, 421 (1942)
- 84 PILLEMER, L., SEIFTER, S.,
FEY, CHU und ECKER, E.E. J. exp. Med. 76, 93 (1942)
- 85 PINNER, M. Beitrag z. Klinik d. Tbc 46, 471 (1921)
- 86 RACHMILEWITZ, M.
und SILBERSTEIN, W. Lab. & Clin. Invest. 22, 1240 (1937)
- 87 RAPP, H. J. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.
- 88 ROSE, W.F. and DANE, I. V. Xth Congr. int. Soc. Hämat.
Stockholm 1964, I, 3
- 89 SACHS, H. Hdb. der pathog. Mikroorganismen
Berlin (1929) (von Kolle, Kraus und
Uhlenhuth)
- 90 SACHS, H. und TERUUCHI Berliner klin. Wschr. Nr. 16, 17, 19
(1907)
- 91 SACHS, H. Z. Imm. Forsch. 91, 328 (1937)
- 92 SAUTHOFF, R. u. a. Int. Arch. Allergy 22, 399 (1963)
- 93 SCAFFIDI, V. u. a. Riv. pat. sper. N Ser. 1-13 (1935)
- 94 SCAFFIDI, V. und Bruno " " " 6, 1 (1930)
- 95 SCHEIDEGGER, J. Int. Arch. Allergy 1, 103 (1953)
- 96 SCHMIDT, H. Fortschritte der Serologie,
2. Auflage (1955)
- 97 SCHUCHARDT, E. Z. Imm. Forsch., Bd. 97
- 98 SCHWICK, G. Lab.-Blätter 8, 11 (1958)
- 99 SEIFTER, S., PILLEMER, L.,
ECKER, E.E. J. Imm. 47, 181 (1943)
- 100 SKWIRSKY, P. Z. Imm. Forsch. 5, 538 (1910)
- 101 STATS, D. u. a. J. Imm. 44, 41 (1942)
- 102 STEFFES, I.H. J. infect. Dis. 86, 12 (1950)
- 103 SZIRMAI, H. Jhrb. der Kinderh. Bd. 107
- 104 TAKASHI, Z. s. Toda, s. u.

- | | |
|---|--|
| 105 TAKANO, Y. | Z. Imm. Forsch. 87, 72 (1936) |
| 106 TAKUNUGA | s. Toda, s. u. |
| 107 TODA, T. und MITSUSE | Z. Imm. Forsch. 78, 62 (1933) |
| 108 TRAUB, R. | J. path. & bact. 55, 447 (1943) |
| 109 VON DER ESCHE, P. | Z. Imm. Forsch. 95, 44 (1939) |
| 110 VAUGHAN, J. H., BAYLES, F. B.,
und FAVOUR, L. B. | Am. J. of Med. Sc. Vol. 222,
Seite 186 (1951) |
| 111 VORLAENDER, K. O. | Z. Imm. Forsch. 107, 278 |
| 112 WALTON, K. W. und
ELLIS, H. A. | J. Imm. 1, 224 (1958) |
| 113 YUNOSUKE, u. a. | 1940 ref. Chem. zbl. (1942) |
| 114 ZIRONI, A. | Boll. Ist. sierotherap. Mil. 9,
237 (1930) |

LEBENS LAUF

Am 30.11.1937 wurde ich als erstes von vier Kindern des Tierarztes Dr. Heinrich Hülße und dessen Ehefrau Lieselotte, geborene Stöhr in Hannover geboren.

Nach der Volksschul- und Gymnasialzeit in verschiedenen Orten Deutschlands legte ich im Sommer 1958 am Wittelsbacher-Gymnasium in München die Reifeprüfung ab.

Im Anschluß an die Wehrdienstzeit begann ich mit dem Sommersemester 1960 das Medizinstudium an der Universität München, wo ich nach fünf Semestern das Physikum bestehen konnte. Nach folgenden sechs klinischen Semestern in München und Kiel schloß ich im Herbst 1965 mein Studium mit dem Staatsexamen vor der Universität München ab.

Die vorliegende Promotionsarbeit wurde mir im Winter 1964 von den Herren Dr. H. Mathies und Dr. I. Imre an der Medizinischen Poliklinik der Universität München überlassen.

